Pest Management Regulatory Agency
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire

Regulatory Note

REG2004-09

Chondrostereum purpureum Strain PFC2139

Cp-PFC2139 (Technical Grade of Active Ingredient) Chontrol Paste (End-use Product)

The technical grade of active ingredient (TGAI) *Cp*-PFC2139 and associated end-use product (EP) Chontrol Paste, containing the naturally occurring fungus *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139, have been granted temporary registration under Section 17 of the Pest Control Products Regulations for use as a herbicide to inhibit stump resprouting in red and Sitka alder.

This Regulatory Note provides a summary of data reviewed and the rationale for the regulatory decision concerning these biopesticide products.

(publié aussi en français)

22 November 2004

This document is published by the Alternative Strategies and Regulatory Affairs Division, Pest Management Regulatory Agency. For further information, please contact:

Publications Coordinator
Pest Management Regulatory Agency
Health Canada
2720 Riverside Drive
A.L. 6605C
Ottawa, Ontario
K1A 0K9

Internet: pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.pmra-arla.gc.ca
Information Service:
1 800 267-6315 or (613) 736-3799
Facsimile: (613) 736-3758

ISBN: 0-662-38716-3 (0-662-38717-1)
Catalogue number: H113-7/2004-9E (H113-7/2004-9E-PDF)

© Her Majesty the Queen in Right of Canada, represented by the Minister of Public Works and Government Services Canada 2004

All rights reserved. No part of this information (publication or product) may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical photocopying, recording or otherwise, or stored in a retrieval system, without prior written permission of the Minister of Public Works and Government Services Canada, Ottawa, Ontario K1A 0S5.

Foreword

Health Canada's Pest Management Regulatory Agency (PMRA) has issued a temporary registration for the TGAI *Cp*-PFC2139 and its EP Chontrol Paste developed by MycoLogic Inc. Health Canada's PMRA and the United States Environmental Protection Agency (USEPA) have jointly reviewed these products as biopesticides within the North American Free Trade Agreement's Technical Working Group (NAFTA TWG) on Pesticides, Joint Review Program.

Chontrol Paste is a biological herbicide, containing 10^5 to 10^7 CFU/kg (colony forming units per kilogram) *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139, and is intended to inhibit stump resprouting on red and Sitka alder. The active microorganism, *C. purpureum*, is a naturally occurring fungus. A different strain of this fungus (HQ-1) has been registered in Canada since 2002 as Myco-Tech Paste (Reg. No. 27020).

Microbial pest control agents are increasingly being investigated for use as alternatives to conventional pesticides because they are thought to pose a lower potential risk to human health and the environment compared with conventional pesticides. Chontrol Paste represents a potential biological replacement for chemical herbicides.

The TGAI *Cp*-PFC2139 and the EP Chontrol Paste used to inhibit stump resprouting on red and Sitka alder have been granted temporary registration pursuant to Section 17 of the Pest Control Products Regulations.

A summary of the Agency's findings in support of this decision is found in this document.

Table of Contents

1.0 The active substance, its properties and uses 1
- 1.1 Identity of the active substance and impurities 1
- 1.2 Physical and chemical properties of active substances and end-use product(s) . 2
- 1.3 Details of uses and further information *(OECD 2.1.3)* 2

2.0 Methods of analysis 4
- 2.1 Methods for analysis of the microorganism as manufactured 4
  - 2.1.1 Methods for identification of the microorganism 4
  - 2.1.2 Methods for establishment of purity of seed stock 4
  - 2.1.3 Methods to define the content of the microorganism in the manufactured material used for the production of formulated products . 5
  - 2.1.4 Methods for the determination of relevant impurities in the manufactured material 5
  - 2.1.5 Methods to show absence of any human and mammalian pathogens ... 5
  - 2.1.6 Methods to determine storage stability, shelf-life of the microorganism 6
- 2.2 Methods to determine and quantify residues (viable or non-viable) of the active microorganism and relevant metabolites 6

3.0 Impact on human and animal health 6
- 3.1 Integrated toxicity and infectivity summary 6
- 3.2 Hypersensitivity incidence 7
- 3.3 Impact on human and animal health arising from exposure to the active substance or to its impurities 7
  - 3.3.1 Occupational and bystander exposure assessment 7

4.0 Residues 8
- 4.1 Residue summary 8

5.0 Fate and behaviour in the environment 8
- 5.1 Summary of fate and behaviour in the terrestrial environment 8

6.0 Effects on non-target species 9
- 6.1 Summary of effects on non-target species 9
- 6.2 Integrated environmental fate and toxicology summary 10

7.0 Efficacy data and information 12
- 7.1 Effectiveness 12
  - 7.1.1 Intended use 12
  - 7.1.2 Mode of action 12
  - 7.1.3 Nature of pest problem 12
  - 7.1.4 Effectiveness against pests 13

7.2 Phytotoxicity to target plants (including different cultivars) or to target plant products ... 17
7.3 Economics ... 18
7.4 Sustainability ... 18
7.4.1 Survey of alternatives ... 19
7.4.2 Compatibility with current management practices including integrated pest management ... 19
7.4.3 Contribution to risk reduction ... 20
7.4.4 Information on the occurrence or possible occurrence of the development of resistance ... 20
7.5 Conclusions ... 20
7.5.1 Summary ... 20

8.0 Toxic Substances Management Policy considerations ... 21

9.0 Regulatory decision ... 22

List of abbreviations ... 23

Appendix I Toxicology ... 25
Table 1 Summary of toxicity and infectivity studies with *C. purpureum* strain PFC2139 and Chontrol Paste ... 25

Appendix II Environmental assessment ... 27
Table 1 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target terrestrial organisms ... 27
Table 2 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target aquatic organisms ... 28

References ... 29

1.0 The active substance, its properties and uses

1.1 Identity of the active substance and impurities

Microbial pest control agent (MPCA) identification

Active microorganism	*Chondrostereum purpureum* strain PFC2139
Function	Mycoherbicide
Binomial name	*Chondrostereum purpureum* (Pers. ex. Fr.) Pouzar isolate PFC2139
Taxonomic designation	
Kingdom	Eumycota
Phylum	Dikaryomycota
Subphylum	Basidiomycotina
Class	Holobasidiomycetes
Order	Aphyllophorales
Family	Corticiaceae
Genus	*Chondrostereum*
Species	*purpureum*
Strain	PFC2139
Canadian patent status information	Canadian patent 2171024 American patent 5,587,158 "Biological control for weed trees" (R. Wall et al. 1996)
Nominal purity of active	107
Identity of relevant impurities of toxicological, environmental and/or other significance	The technical product does not contain any impurities or microcontaminants known to be Toxic Substances Management Policy (TSMP) Track 1 substances. The final product must meet microbiological contaminants release standards, and no mammalian toxins are known to be produced by *C. purpureum* or its close relatives in the Corticiaceae family.

1.2 Physical and chemical properties of active substances and end-use product(s)

Technical product: *Cp*-PFC2139

Property	Result
Physical state	white powder
Specific gravity	1.5–2.5 g/mL
Viscosity	not reported
Corrosion character	not reported (non-oxidizing or reducing)
Wettability	water dispersable
pH (in solution)	5–8 as a 10% suspension
Moisture content	approximately 17%

EP: Chontrol Paste

Property	Result
Physical state	white paste
Guarantee	nominal 10^{7} CFU/kg
Formulants	All formulants in Chontrol Paste are considered relatively non-toxic (i.e., are on either USEPA inerts list 4A or 4B). The product does not contain any USEPA List 1 formulants or formulants known to be TSMP Track 1 substances.
Corrosion character	not reported (non oxidizing or reducing)
Wettability	water dispersable
pH (in solution)	5–8 as a 10% suspension
Moisture content	approximately 40%

1.3 Details of uses and further information *(OECD 2.1.3)*

Chontrol Paste is a formulated product containing living mycelium of the fungus *C. purpureum* isolate PFC2139 for application to freshly cut stumps of weedy deciduous brush species in rights-of-way and forest vegetation management situations. The product is designed to deliver a dose of 10^{5} to 10^{7} CFU/kg, with an average of 5 g of Chontrol

1.2 Physical and chemical properties of active substances and end-use product(s)

Technical product: *Cp*-PFC2139

Property	Result
Physical state	white powder
Specific gravity	1.5–2.5 g/mL
Viscosity	not reported
Corrosion character	not reported (non-oxidizing or reducing)
Wettability	water dispersable
pH (in solution)	5–8 as a 10% suspension
Moisture content	approximately 17%

EP: Chontrol Paste

Property	Result
Physical state	white paste
Guarantee	nominal 10^6 CFU/kg
Formulants	All formulants in Chontrol Paste are considered relatively non-toxic (i.e., are on either USEPA inerts list 4A or 4B). The product does not contain any USEPA List 1 formulants or formulants known to be TSMP Track 1 substances.
Corrosion character	not reported (non oxidizing or reducing)
Wettability	water dispersable
pH (in solution)	5–8 as a 10% suspension
Moisture content	approximately 40%

1.3 Details of uses and further information *(OECD 2.1.3)*

Chontrol Paste is a formulated product containing living mycelium of the fungus *C. purpureum* isolate PFC2139 for application to freshly cut stumps of weedy deciduous brush species in rights-of-way and forest vegetation management situations. The product is designed to deliver a dose of 10^5 to 10^7 CFU/kg, with an average of 5 g of Chontrol

Paste applied per stump (approximately 5000 CFU per stump), depending on the stump diameter. Use of the product is proposed across Canada to inhibit resprouting and regrowth from cut stumps of red alder (*Alnus rubra*), Sitka alder (*Alnus sinuata*), speckled alder (*Alnus rugosa*) and trembling aspen (*Populus termuloides*).

The use of *C. purpureum* as a vegetation management tool was first reported in the Netherlands. In Canada, *C. purpureum* has been investigated as a mycoherbicide since 1990; a commercial stump resprouting inhibitor, Myco-Tech Paste, containing *C. purpureum* strain HQ-1 has been registered in Canada since 2002 (Reg. No. 27020).

Chondrostereum purpureum strain PFC2139 was isolated from a canker on a red alder (*Alnus rubra* Bong) on Vancouver Island near Duncan, British Columbia in 1994. The canker developed after the tree was inoculated in July 1993 with strain PFC2090, originally isolated from an apple tree (*Malus* spp.) in Saanicton, British Columbia, in 1989. It is naturally occurring and has not been genetically modified.

C. purpureum is a cosmopolitan species that is globally distributed in temperate zones. It is ubiquitous in Canada and common in the United States as far south as Delaware in the east, and Oregon in the west. *Chondrostereum purpureum* is a white-rot fungus and the causative agent of silver leaf, a disease of fruit trees. It is not host specific, having a wide host range as a wound pathogen of broadleaf trees, but in spite of its broad host range, its impact is limited. It can invade only through fresh wounds in the xylem, and it is a weak pathogen, causing a mild sapstreak in many infected trees and killing only severely compromised trees. Healthy trees repel fungal infection with antifungal metabolites (phytoalexins) and by compartmentalizing infected tissues. Because the fungus can survive as a saprophyte, there is little selection pressure toward greater virulence or host specialization.

Chondrostereum purpureum is disseminated through the production of numerous short-lived basidiospores from fertile fruiting bodies (basidiocarps or sporophores) that usually appear between one and three years after the infection is initiated. Sporophores only produce spores after immersion in free water, or if grown on a substrate with greater than 75% moisture content. This makes rainfall the most important environmental factor governing spore release. Released spores are sensitive to sunlight and dry conditions, and they are unlikely to survive for more than five hours. This suggests that long-distance translocation of spores is unlikely. Infection of a new host begins with the deposition of spores on fresh stem wounds or on the surface of cut stumps. Only in fresh wounds are the small basidiospores drawn by capillary action up to 20 mm into the xylem tissues where they are free from competition with other fungi. In this environment, the spores can germinate within 24 hours at optimum temperatures of 25 to 27°C and rapidly colonize xylem tissues.

Chondrostereum purpureum is heterothallic. This type of sexual reproduction promotes outbreeding because successful conjugation occurs only between genetically distinct, but compatible, mycelia. The complete compatibility among Canadian isolates and between

Canadian and European isolates indicates that *C. purpureum* maintains a highly diverse population of mating type alleles. Consequently, a significant level of genetic variation within the species is expected. Considerable heterogeneity was indeed observed in studies in which the isolates from across North America were tested using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis and sequence characterized amplified region (SCAR) analysis as described in Section 2.1.1. Genetic diversity appears to be continuously distributed across North America. Although single restriction site polymorphisms (nuclear types) showed a polarized distribution across the continent, there is a convergence of types in central populations suggesting that gene flow is continuous across the continent. Where the entire genome was examined, variation was shown to be greater within populations than between geographic locations or host types.

2.0 Methods of analysis

2.1 Methods for analysis of the microorganism as manufactured

2.1.1 Methods for identification of the microorganism

To differentiate PFC2139 from other strains of *C. purpureum*, a polymerase chain reaction based technique is used. An unusual SCAR primer was derived from a RAPD analysis of *C. purpureum* strains. The RAPD technique directly detects DNA polymorphism by amplifying genomic DNA at low stringency using short (10 base pair) randomly generated primers. Multiple DNA fragments are amplified, and DNA polymorphism is observed on electrophoresis as strain-specific banding patterns. In the SCAR technique, RAPD fragments are sequenced, and longer primers, incorporating the original RAPD primer as well as a portion of the amplified sequence are designed. As such, SCAR primers are expected to specifically amplify the RAPD fragment from which they were designed.

During screening of a series of SCAR primers designed from RAPD fragments generated from strain PFC2139 using the RAPD primer OPD13, one SCAR, designated AP-D13, was fortuitously discovered to amplify multiple genomic DNA fragments from *C. purpureum*. On separation by agarose gel electrophoresis, these fragments created a pattern of bands that was unique to each strain. This characteristic lent the chief advantage of the RAPD technique, a strain-specific banding pattern generated from genomic DNA, to a high stringency primer. On amplification with the AP-D13 primers, strain PFC2139 uniquely yields fragments of 1640, 1400, 1200, 1000, 810, 760, 540, and 420 base pairs in length. The AP-D13 SCAR primer can be used to differentiate the Chontrol Paste MPCA from other *C. purpureum* strains, both in manufacturing and in the field.

2.1.2 Methods for establishment of purity of seed stock

The original master stock of the MPCA was a pure culture isolate grown on 1.5% malt extract agar. Agar plugs are stored in liquid nitrogen at MycoLogic and at the Pacific

Forestry Centre as well as in deposits at the Biosystematics Research Institute (Ref No. 84M-89) of Agriculture Canada and at the American Type Culture Collection (ATCC 60854). The master seed stock is replenished from working stock of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139, after re-isolation from cut red alder stems. The culture is tested for viability by plating on malt extract agar; for purity using the 3M Petrifilm Aerobic Count (total mesophiles) and Yeast and Mould plates; as well as for genetic stability using SCAR strain-specific markers. If these quality control points are passed, the culture is used to inoculate malt extract agar plates. Cultures that are 10–15 days old are preserved as agar plugs in liquid nitrogen. Batches of 100 to 200 cryovials are prepared at once, and used within one year, at which time a new production stock is prepared. Only production stocks that are viable, free of contamination and show positive strain identification as PFC2139 are released for production use.

2.1.3 Methods to define the content of the microorganism in the manufactured material used for the production of formulated products

The TGAI is the product of a two-stage process: a primary submerged fermentation followed by a solid-state fermentation in bags. Quality control checks throughout manufacturing ensure that culture purity and MPCA titre are within acceptable limits. Genetic identity is confirmed using strain-specific SCAR markers as described in Section 2.1.1. Viable *C. purpureum* titres are calculated by plating serial dilutions of the TGAI or EP. The TGAI must have a *C. purpureum* titre between 10^7 and 5×10^8 CFU/kg. Although the product guarantee for the EP is 10^5–10^7 CFU/kg, a titre of 10^6–10^7 CFU/kg will be required for product release as a condition of registration to compensate for loss of titre with storage.

2.1.4 Methods for the determination of relevant impurities in the manufactured material

Neither *C. purpureum* nor its close taxonomic relatives in the Corticiaceae family are known to produce mammalian toxins. The mode of action of *C. purpureum* as a plant pathogen is attributed in part to its ability to produce sesquiterpenoid plant toxins or their derivatives. None of the sesquiterpenoids produced in liquid culture are known to be toxic to mammals. *Chondrostereum purpureum* has not been reported to produce genotoxins. Consequently, analytical methods for detection and quantification of these compounds in *Cp*-PFC2139 preparations are not considered necessary.

The product is screened for microbial contamination using 3M Aerobic Count Petrifilm plates (3M Microbiology Products) and Yeast and Mould Count Petrifilm plates according to 3M protocols. The product must have a total microbial contaminant burden of less than 10^6 CFU/kg (less than 10^3 CFU/g).

2.1.5 Methods to show absence of any human and mammalian pathogens

Contaminants testing is done by serial dilution of the EP, followed by plating on selective media to detect pathogens. In general, these media are recommended for the isolation of

specific pathogens from foods. Fecal streptococci/enterococci are enumerated using Difco Kenner Fecal (KF) Streptococcus agar, as recommended by Difco for enumerating enterococci in foods. The following 3M Petrifilm plates are used in contaminants testing: Enterobacteriaceae, coliform bacteria, *Escherichia coli* and other coliforms, staphylococci and *Staphylococcus aureus*. *Salmonella* and *Shigella* spp. are detected using Difco SS agar. For the detection of *Vibrio* spp., samples are diluted in an enrichment medium (alkaline peptone water) and incubated for six hours at 35 to 37°C prior to plating on thiosulphate citrate bile sucrose agar (TCBS Agar, Difco). Release standards for the EP, Chontrol Paste, are less than 10^6 CFU/kg total contaminants, and require the absence of detectable human or animal pathogens. Note that the limit of detection for pathogens is between 10^2 and 10^5 CFU/kg (assuming that a single colony constitutes detection).

2.1.6 Methods to determine storage stability, shelf-life of the microorganism

A storage stability study showed a significant loss in potency over 90 days. Five batches of the EP were assayed before and after 90 days of storage. Titres were calculated from viable plate counts. The mean titre was 7.9×10^6 CFU/kg at day zero, and mean residual titre after 90 days was 2.8×10^6, or 35% of the initial potency. Although both starting and 90-day titres were within the guarantee limits of 10^5 to 10^7 CFU/kg, if they had had a lower starting potency (still within guarantee limits), then the lower limit might have been exceeded after 90 days of storage. The applicant must, therefore, ensure that the product-release standards include a titre of at least 10^6 CFU/kg. Storage statements on the TGAI and EP label are to reflect the limited storage stability of this product.

2.2 Methods to determine and quantify residues (viable or non-viable) of the active microorganism and relevant metabolites

The proposed uses of Chontrol Paste do not include application to food or feed. Calculation of a maximum residue limit (MRL) is, therefore, not required.

3.0 Impact on human and animal health

See Appendix I, Table 1, for summary table.

3.1 Integrated toxicity and infectivity summary

The information and data submitted by Mycologic Inc. in support of registration of *Cp*-PFC2139 and Chontrol Paste, were reviewed from the viewpoint of human health and safety and was determined to be sufficiently complete to permit a decision on registration. The information provided to address the characterization of the active ingredient as well as the manufacturing process and quality control adequately addressed the potential human health and safety concerns associated with *C. purpureum* strain PFC2139 and bacterial/fungal contaminants introduced during production.

The acute toxicity and infectivity studies submitted in support of registration of *Cp*-PFC2139 and Chontrol Paste were reviewed. The data set included acceptable acute oral, acute dermal toxicity/pathology and acute eye irritation studies as well as a supplemental acute pulmonary toxicity/infectivity study. The acute dermal toxicity/pathology also contained sufficient data to make a decision on primary dermal irritation. No overt signs of toxicity were noted when *C. purpureum* strain PFC2139 was administered to rats and rabbits via the oral and dermal routes of exposure. *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 appeared to be slightly toxic in the rat via the intratracheal route; however, additional data and information are required to properly interpret these results as clinical signs (e.g., loss of body weight) were noted in both treated and control rats, and no explanation was provided for the mortality noted on Day 2. In rabbits, Chontrol Paste was slightly irritating when applied dermally and was minimally irritating when instilled into the eye. *Chondrostereum purpureum* is not known to produce mammalian toxins.

3.2 Hypersensitivity incidence

There have been no reported incidents of hypersensitivity in manufacturing, formulating or applying Chontrol Paste. However, in common with all microorganisms, *C. purpureum* is considered to be a potential sensitizing agent. Continued surveillance and reporting of hypersensitivity incidents is required.

3.3 Impact on human and animal health arising from exposure to the active substance or to its impurities

3.3.1 Occupational and bystander exposure assessment

The human health and safety studies reviewed showed that Chontrol Paste and *Cp*-PFC2139 are of low acute toxicity via the oral, pulmonary and dermal routes of exposure, and is not likely to be pathogenic by intratracheal instillation. However, like all microbial pesticides, *C. purpureum* is considered to be a potential sensitizer, though there are no reports of hypersensitivity. Irritation studies in rabbits showed that Chontrol Paste was slightly irritating to the skin and minimally irritating to the eyes.

As described in Section 1.3, the proposed use for *C. purpureum* is as biological herbicide for control of sprouting or regrowth of red alder, Sitka alder, speckled alder and trembling aspen in rights-of-way and forest vegetation management situations. Chontrol Paste is to be applied topically as a paste to freshly cut stumps during summer or autumn at an average rate of 5 g/stump (approximately 5000 CFU/stump) depending on the stump diameter. When handled according to the label instructions, the potential for applicator exposure is limited to the dermal route. The potential for bystander exposure is minimal during application though it increases significantly after fructification has occurred. The potential for bystander exposure following fructification is possible via inhalation of the released basidiospores. However, the intentional deployment of the active ingredient is

unlikely to result in a significant increase in the natural background levels of basidiospores produced by this species, as it is abundant throughout Canada.

On the basis of its biological properties, lack of toxicity and pathogenicity as well as the proposed use pattern for Chontrol Paste, it is recommended that the label include standard personal protective equipment (including gloves) when handling this product. For the TGAI, it is also recommended that the label include standard personal protective equipment, in addition to a dust/mist filtering respirator (MSH/NIOSH approval number prefix TC-21C) or a NIOSH approved respirator with any –95, R-95, P-95 or HE filter for biological products to prevent inhalation exposure. This label statement is recommended because the acute pulmonary toxicity/infectivity study was considered to be supplemental.

4.0 Residues

4.1 Residue summary

As Chontrol Paste is not intended for application to food or feed crops, the establishment of an MRL is not required for *C. purpureum* strain PFC2139 under Section 4(d) of the *Food and Drugs Act* (adulteration of food) as defined under Division 15, Section B.15.002 of the Food and Drugs Regulations. Although *C. purpureum* is ubiquitous in nature, no adverse effects from dietary exposure have been attributed to this species. Furthermore, no adverse effects were observed in the acute oral toxicity study in rats and there are no reports of mammalian toxins being produced by the MPCA. Although heavy rainfall might carry *C. purpureum* into aquatic environments (e.g., runoff from treated stumps), the MPCA is not expected to proliferate in aquatic habitats. Moreover, percolation through soil and municipal treatment of drinking water would reduce the possibility of significant transfer of *C. purpureum* strain PFC2139 to drinking water.

5.0 Fate and behaviour in the environment

5.1 Summary of fate and behaviour in the terrestrial environment

The active ingredient, *C. purpureum*, is a ubiquitous organism with a continuously distributed population across Canada. The extensive genetic diversity and out-crossing nature of *C. purpureum* isolates indicate that deployment of a single isolate across Canada will have a minimal impact on the resident population.

Chontrol Paste is to be applied topically as a mycelial paste formulation; therefore, exposure of terrestrial and aquatic organisms to *C. purpureum* will be minimal at the time of application. Furthermore, environmental fate models of *C. purpureum* sporulation and spore dispersal suggest that the additional spore density following the deployment of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 as a biological control agent will be equal in magnitude to, or less than, the naturally occurring spore density from resident populations of *C. purpureum*.

Although the Netherlands considered imposing a 100–500 m buffer zone around fruit trees and orchards in a withdrawn application to register *C. purpureum*, a critical review of the submitted literature and data indicates that a buffer zone is not required. The Netherlands proposal may have been based on a study in which assumptions were greatly biased towards an overestimation of risk and in which methods relied heavily on environmental modelling. Empirical studies indicate that the additional spore load due to deployment of *C. purpureum* would be of the same order of magnitude, or less than, the natural spore load. Furthermore, it is tree wounding, not spore load, that is the primary determinant of infection. Therefore, no buffer zone around fruit trees or ornamentals that may be pruned or grafted is required because non-target healthy trees are at negligible risk, while wounded trees would likely be equally vulnerable to resident populations of *C. purpureum* as they would to *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139.

6.0 Effects on non-target species

See Appendix II, tables 1 and 2, for summary tables.

6.1 Summary of effects on non-target species

Chondrostereum purpureum is a cosmopolitan fungus that is widely distributed in over 40 different countries on all continents except Antarctica. In North America, it can be found in Canada and the northern regions of the United States (south to Virginia in the east and to northern California in the west). The natural range of *C. purpureum* is thought to be limited to temperate, moist zones. Extensive literature searches in various databases found no reports of adverse effects on birds, mammals, fish, arthropods, non-arthropod invertebrates and aquatic plants, but numerous reports of adverse effects on various terrestrial plants. The natural host range of *C. purpureum* includes a variety of terrestrial plants, particularly deciduous trees, in which it is a pathogen, gaining entry mostly through newly created wounds, and causing the systemic 'silver leaf' disease. Coniferous trees have had reported cases of infection, though other saprophytes apparently quickly crowd out *C. purpureum* in infected tissues (Etheridge and Morin 1963). Herbaceous plants are reportedly not infected by *C. purpureum*. Disease in infected plants includes occlusion of xylem and subsequent water stress to the plant with a variety of compounds reportedly produced that cause or contribute to disease symptoms (Spiers et al. 1987), including extracellular endo-polygalacturonase enzymes (Miyairi et al. 1977; Miyairi et al. 1979), as well as sesquiterpene compounds such as torreyol, sterpuric acid, sterepolide, and dihydrosterepolide (Strunz et al. 1997; Ayer et al. 1981). Fructification and replacement by secondary colonizers is typically reported between six months and three years.

In a recent study, Setliff (2002) noted the potential for widespread outbreak of silver leaf disease in the Betulaceae and Salicaceae (birch and alder) following timber harvesting or storm damage. Setliff also noted that application of *C. purpureum* to areas pruned often, such as orchards, should be avoided. These statements are largely based on the ability of *C. purpureum* to colonize fresh wounds and to disseminate in the environment through

the production of numerous short-lived basidiospores from fertile sporophores following significant rainfall. Thousands of naturally released basidiospores per cubic metre of air were reported by Spiers (1985) and Dye (1974), and this large reservoir of basidiospores provides an effective strategy for early arrival on potential hosts. Attempts to estimate the risk of infection to non-target terrestrial plants were made by calculating theoretical spore emissions using environmental data obtained from the Netherlands and southern Vancouver Island, British Columbia, by means of the Gaussian plume model. The climate of Vancouver Island, with environmental conditions particularly suitable for fructification and sporulation, represents a worst-case scenario for risk to non-target trees in North America. Using these data, De Jong et al. (1996) estimated that the added number of basidiocarps resulting from introduced *C. purpureum* was of the same order of magnitude as, or lower than, naturally occurring levels. The presence of a fresh wound, and not the basidiospore load, is the main determinant of a non-target host tree's risk of infection. As well, the susceptibility of a tree is dependent on its health status. Healthy host trees have been reported to successfully fight off infection by physically compartmentalizing invading *C. purpureum* (Wall 1991).

Chontrol Paste is to be applied topically as a paste formulation, therefore, exposure of terrestrial and aquatic organisms to *C. purpureum* will be minimal at the time of application. Furthermore, *C. purpureum* is not likely to spread between trees through the root system; environmental fate models of *C. purpureum* sporulation and spore dispersal suggest that the additional spore density, due to deployment of *C. purpureum* strain PFC2139 as a biological control agent, will be equal in magnitude to, or less than, the naturally occurring spore density from resident populations of *C. purpureum*. The incremental increase in spore density is not expected to increase the likelihood of adverse effects to these non-target organisms.

6.2 Integrated environmental fate and toxicology summary

Several published papers and field trials describing the environmental effects of *C. purpureum* strain PFC2139 following its use as a biological herbicide were submitted for review. These included analyses of genetic variation in native populations of *C. purpureum*; environmental fate field trials; environmental toxicology studies and environmental fate models, which predicted sporulation and spore dispersal patterns.

The active ingredient, *C. purpureum*, is a ubiquitous organism with a continuously distributed population across Canada. Although single restriction site polymorphisms (nuclear types) showed a polarized distribution across North America, both types do occur on either coast, and there is a convergence of types in central populations suggesting that gene flow is continuous across the continent. Where the entire genome was examined, variation was shown to be greater within populations than between geographic locations or host types. A field study measuring genetic similarity between introduced *C. purpureum* biocontrol strains and field-collected *C. purpureum* isolates gathered before and after a field release, showed no increase in similarity to biocontrol strains between pre- and post-release field isolates. Taken together, these studies indicate

that the application of a single biocontrol strain across North America, will have a minimal effect on the genetic diversity of resident *C. purpureum* populations.

Chondrostereum purpureum is ubiquitous in the forest ecosystem, so non-target organisms are naturally exposed to a large number of spores, yet an extensive literature search found no reports of direct adverse effects on birds, wild mammals, fish, arthropods, non-arthropod invertebrates or aquatic plants. As expected, many articles identified *C. purpureum* as the causative agent of silver leaf disease in terrestrial plants. Acute mammalian toxicity/infectivity studies showed that *C. purpureum* strain PFC2139 is not toxic when administered orally; whereas, on pulmonary exposure, it is slightly toxic but did not appear to be pathogenic or infective. Chontrol Paste (EP) is a slight dermal irritant, but it is practically non-irritating to the eyes. Because *C. purpureum* does not grow at 35°C and is killed by sustained incubation at 37°C, it is unlikely to be pathogenic to mammals or birds. Adverse effects in birds, wild mammals, fish, arthropods, non-arthropod invertebrates and aquatic plants due to the proposed use of Chontrol Paste are not expected, based on:

- the lack of reported adverse effects,
- the lack of significant toxicity or infectivity in acute mammalian toxicity/infectivity studies, and
- the inability of *C. purpureum* to grow at high temperatures.

The risk to non-target terrestrial plants was addressed in several studies. Chontrol Paste is to be applied as a paste to stumps immediately after cutting. Its formulation is expected to minimize the exposure of non-target plants to *C. purpureum* mycelia. This was demonstrated in an article showing no recovery of *C. purpureum* strain PFC2139 from areas adjacent to a site treated with mycelial paste. Non-target trees are more likely to be infected by spores from fruiting bodies growing on treated stumps. Environmental models of sporulation and spore dispersal in *C. purpureum* suggest that the additional spore density contributed by the deployment of biological control strains is equal in magnitude to, or less than, the density of naturally occurring spores from resident *C. purpureum* populations. The incremental increase in spore density due to biocontrol operations is not expected to increase the likelihood of non-target effects. Tree wounding, not spore load, appears to be the primary determinant of infection, and the overall health of a tree appears to determine the extent of disease progression. Although buffer zones have been considered for *C. purpureum* biocontrol products, empirical studies indicate that no buffer zone is required because non-target healthy trees are at negligible risk, while wounded trees are as vulnerable to resident populations of *C. purpureum* as they are to introduced biocontrol strains.

7.0 Efficacy data and information

7.1 Effectiveness

7.1.1 Intended use

Chontrol Paste is intended for use on cut stumps of selected deciduous tree species, including red alder, Sitka alder, speckled alder and trembling aspen in rights-of-way and forest vegetation management situations. An application of Chontrol Paste is designed to increase the efficiency of the mechanical cutting operation by inhibiting the resprouting and regrowth potential.

The product is formulated as a paste that is spread over the entire surface of the freshly cut stump as part of the cutting operation conducted during the summer or fall. One bottle of Chontrol Paste will treat approximately 200 cut stumps with a cut surface diameter of 2 to 6 cm (approximately 5 g, or about 5000 CFU, per stump). Successful treatment of cut stumps with Chontrol Paste should result in reduced resprouting and regrowth, thereby minimizing the need for subsequent cutting and allowing for the establishment of more desirable shrub species in rights-of-way and forest vegetation management situations.

7.1.2 Mode of action

Chondrostereum purpureum is a basidiomycete fungus belonging to the Aphyllophorales order of the Corticiaceae family. *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 was isolated from a canker on red alder near Duncan, British Columbia in 1994. The fungus is not host specific and has a wide host range with a preference for broad-leaved trees. *Chondrostereum purpureum* invades its tree host through wounds in the xylem and causes mortality of infected trees only if they are severely stressed (e.g., tree stems that are girdled or cut). The pathogenicity of *C. purpureum* is expressed as silver leaf symptom of some trees and vascular discolouration and necrosis with resulting stem cankers. This species is a pioneer pathogen, rarely surviving more than three years in host tissue and is replaced by other decay organisms.

7.1.3 Nature of pest problem

Much of the vegetation that requires control in both rights-of-way and forest vegetation management consists of deciduous hardwoods trees such as alders, birches (*Betula* spp.), maples (*Acer* spp.) and poplars. These fast-growing species suppress the more economically desirable softwood species that are the foundation of Canada's lumber and pulpwood industries (MacLean and Morgan 1982, Haeuschler and Coates 1986 and Smith 1988).

7.1.4 Effectiveness against pests

7.1.4.1 Isolate selection

One of the first steps toward development of the end-use product, Chontrol Paste, was to evaluate several isolates of the fungus *C. purpureum* to determine which of the isolates demonstrated optimum virulence in order to identify an isolate suitable for further testing.

Two research trials (one laboratory study and one greenhouse study) were conducted to determine the ability of several isolates of *C. purpureum* to cause infection and mortality on potential hosts and host tissues.

In the laboratory study, 18 isolates of *C. purpureum* were inoculated onto tissue cultures of red alder, black cottonwood (*Populus balsamifera*) and thimbleberry (*Rubus parviflorus*). The study results indicated that there was a significant difference in the virulence of *C. purpureum* among the isolates. The study also reported a significant difference in the virulence of the fungus to different host tissues.

A greenhouse study was conducted over a one-year period to evaluate the virulence of several isolates of *C. purpureum* on black cottonwood and red alder seedlings. Ten isolates of *C. purpureum* were inoculated onto black cottonwood seedlings, while twelve isolates of *C. purpureum* were inoculated onto red alder seedlings. One year after inoculation, the study reported a significant difference in virulence among the *C. purpureum* isolates tested. The results also demonstrated that there was a significant difference in the ability of *C. purpureum* to infect and cause mortality between the seedlings tested, with black cottonwood being a more challenging species compared to red alder.

The results of the isolate selection trials demonstrate the ability of *C. purpureum* to infect various broadleaf tree species and cause a degree of mortality that varies between tree species. As such, these trials are supportive of the proposed use pattern.

7.1.4.2 Efficacy on selected species

Red alder (*Alnus rubra*)
Red alder is exclusively found along the coastal region of British Columbia and along the coastal region of the northwestern United States (Canadian Biodiversity website 2003, Hosie 1979 and Little 1971). One shade house trial and three operational trials reported the performance of Chontrol Paste on red alder.

The greenhouse trial was conducted over one year (1995–1996) near Victoria, British Columbia, in which 12 one-year-old red alder stumps were inoculated with 1 of 12 isolates of *C. purpureum*. Measurements were recorded on a monthly basis and included the number of living shoots, stem dieback and percent mortality. One year after inoculation, all *C. purpureum* isolates provided a positive infection; however, significant

differences in virulence were noted among isolates. Of the 12 isolates tested, 3 isolates (2128u, 2139 and 3 × -8u) provided a more consistent level of red alder growth suppression. Overall, the results support the infectivity of the fungal pathogen and the difference between isolate virulences, with isolate 2139 performing well.

Three operational trials conducted over two years (one trial in 1994 and two trials in 1995) reported the growth response parameters such as percent mortality as well as the number of stems per stump in the year following treatment (three trials), two years following treatment (two trials) and three years after treatment (one trial):

- One year after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 94% mortality (n=3) and a mean of 2.7 sprouts per stump (n=2), while the cut only treatment provided a mean of 49% mortality (n=3) and a mean of 7.9 sprouts per stump (n=2).

- Two years after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 100% mortality (n=2) and a mean of 0 sprouts per stump (n=1), while the cut only treatment provided a mean of 50.7% mortality (n=2) and a mean of 11.3 sprouts per stump (n=1).

- Three years after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 100% mortality (n=1), while the cut only treatment provided a mean of 15.4% mortality (n=1).

The data support a claim that sprouting or regrowth of red alder is inhibited following an application of Chontrol Paste.

Sitka alder (*Alnus sinuata*)
Sitka alder is distributed throughout British Columbia and extends its range into the western portion of Alberta and the northwestern United States (Canadian Biodiversity website 2003, Hosie 1979 and Little 1976).

One operational trial was conducted over two years (1995–1997) near Ripperto Creek, British Columbia, in which Sitka alder clumps received one of eight treatments, including Chontrol Paste, Paste blank, cut only, and a stump application of triclopyr. The results collected one year after treatment are found in Table 7.1.4.2.1, whereas the results collected two years after treatment are found in Table 7.1.4.2.2.

Table 7.1.4.2.1 Treatments to Sitka alder clumps – one year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	80%	4%	16%	100%
Mean sprouts per clump	1.8	14.1	10.2	0

Table 7.1.4.2.2 Treatments to Sitka alder clumps – two year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	88%	7.4%	11.2%	98.2%
Mean sprouts per clump	0.7	16.4	12.1	0.1

With the overlapping and exclusive range of red alder and Sitka alder in British Columbia, the environmental conditions, such as temperature, moisture and light, required for spore germination and mycelium growth would be similar for both alder species. It is, therefore, reasonable to use the red alder data to support the claim for Sitka alder.

The data support a claim that sprouting or regrowth of Sitka alder is inhibited following an application of Chontrol Paste.

Speckled alder (*Alnus rugosa*)
Speckled alder is widely distributed across Canada with the exception of the coastal regional of British Columbia. Its range also extends into the northern states that surround the Great Lakes and throughout the New England states (Canadian Biodiversity website 2003, Hosie 1979).

One operational field trial was conducted over two years (1995–1997) near Thessalon, Ontario, in which speckled alder clumps received one of eight treatments including Chontrol Paste, Paste blank, cut only, and a stump application of triclopyr. The results collected one year after treatment are found in Table 7.1.4.2.3, whereas the results collected two years after treatment are found in Table 7.1.4.2.4.

Table 7.1.4.2.3 Treatments to speckled alder clumps – one year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	12%	0%	0%	94%
Mean sprouts per clump	8.9	21.6	21.4	1.2

differences in virulence were noted among isolates. Of the 12 isolates tested, 3 isolates (2128u, 2139 and 3 - -8u) provided a more consistent level of red alder growth suppression. Overall, the results support the infectivity of the fungal pathogen and the difference between isolate virulences, with isolate 2139 performing well.

Three operational trials conducted over two years (one trial in 1994 and two trials in 1995) reported the growth response parameters such as percent mortality as well as the number of stems per stump in the year following treatment (three trials), two years following treatment (two trials) and three years after treatment (one trial):

- One year after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 94% mortality (n=3) and a mean of 2.7 sprouts per stump (n=2), while the cut only treatment provided a mean of 49% mortality (n=3) and a mean of 7.9 sprouts per stump (n=2).

- Two years after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 100% mortality (n=2) and a mean of 0 sprouts per stump (n=1), while the cut only treatment provided a mean of 50.7% mortality (n=2) and a mean of 11.3 sprouts per stump (n=1).

- Three years after treatment, Chontrol Paste provided a mean of 100% mortality (n=1), while the cut only treatment provided a mean of 15.4% mortality (n=1).

The data support a claim that sprouting or regrowth of red alder is inhibited following an application of Chontrol Paste.

Sitka alder (*Alnus sinuata*)
Sitka alder is distributed throughout British Columbia and extends its range into the western portion of Alberta and the northwestern United States (Canadian Biodiversity website 2003, Hosie 1979 and Little 1976).

One operational trial was conducted over two years (1995–1997) near Ripperto Creek, British Columbia, in which Sitka alder clumps received one of eight treatments, including Chontrol Paste, Paste blank, cut only, and a stump application of triclopyr. The results collected one year after treatment are found in Table 7.1.4.2.1, whereas the results collected two years after treatment are found in Table 7.1.4.2.2.

Table 7.1.4.2.1 Treatments to Sitka alder clumps – one year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	80%	4%	16%	100%
Mean sprouts per clump	1.8	14.1	10.2	0

Table 7.1.4.2.2 Treatments to Sitka alder clumps – two year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	88%	7.4%	11.2%	98.2%
Mean sprouts *per clump*	0.7	16.4	12.1	0.1

With the overlapping and exclusive range of red alder and Sitka alder in British Columbia, the environmental conditions, such as temperature, moisture and light, required for spore germination and mycelium growth would be similar for both alder species. It is, therefore, reasonable to use the red alder data to support the claim for Sitka alder.

The data support a claim that sprouting or regrowth of Sitka alder is inhibited following an application of Chontrol Paste.

Speckled alder (*Alnus rugosa*)

Speckled alder is widely distributed across Canada with the exception of the coastal regional of British Columbia. Its range also extends into the northern states that surround the Great Lakes and throughout the New England states (Canadian Biodiversity website 2003, Hosie 1979).

One operational field trial was conducted over two years (1995–1997) near Thessalon, Ontario, in which speckled alder clumps received one of eight treatments including Chontrol Paste, Paste blank, cut only, and a stump application of triclopyr. The results collected one year after treatment are found in Table 7.1.4.2.3, whereas the results collected two years after treatment are found in Table 7.1.4.2.4.

Table 7.1.4.2.3 Treatments to speckled alder clumps – one year post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	12%	0%	0%	94%
Mean sprouts per clump	8.9	21.6	21.4	1.2

Table 7.1.4.2.4 Treatments to speckled alder clumps – two years post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	26%	0%	0%	92%
Mean sprouts per clump	5.5	16	15.4	1.1

Considering the distribution of speckled alder throughout Canada, insufficient data were made available on which to base a scientific conclusion as to the ability of Chontrol Paste to inhibit resprouting and regrowth of speckled alder. Therefore, speckled alder must be removed from the product label.

Trembling aspen (*Populus tremuloides*)
Trembling aspen is widely distributed across Canada and into the northern United States (Hosie 1979, Little 1971).

Three operational trials were conducted at two sites in British Columbia and one site in Ontario, which reported trembling aspen growth responses following an application of Chontrol Paste, one and two years after treatment.

A study conducted near Chetwynd, British Columbia, over one year (1996–1997) showed that Chontrol Paste provided a significant treatment effect on stump mortality and stump health index when compared to the blank formulation treatment and the cut only treatments. One year after treatment:

- Chontrol Paste provided a mean of 37% mortality,
- the Paste blank treatment provided a mean of 21% mortality,
- the cut only treatment provided a mean of 15% mortality, and
- the stump application of triclopyr provided a mean of 100% mortality.

Based on the data provided, Chontrol Paste performed significantly better than the formulation blank and the cut only treatments.

A two-year study (1995–1997) conducted northwest of Grand Forks, British Columbia, showed that Chontrol Paste provided a significant treatment effect on stump mortality when compared to the blank formulation treatment and the cut only treatment. The results, after two years of treatments, are shown in Table 7.1.4.2.5. Based on the data provided, Chontrol Paste performed significantly better than the formulation blank and the cut only treatments as well as the triclopyr treatment.

Table 7.1.4.2.5 Treatments to trembling aspen clumps – two years post treatment

	Chontrol Paste	Paste blank treatment	Cut only treatment	Stump application of triclopyr
Mean mortality	84%	14%	31%	97%
Mean sprouts per m^2	2.2	3.4	4.2	0.4

A two-year study (1995–1997) conducted north of Iron Bridge, Ontario, showed that Chontrol Paste caused a reduction in the number of root suckers per metre (0.05 root suckers/m^2) when compared to the Paste blank treatment (0.56 root suckers/m^2) and the cut only treatment (0.59 root suckers/m^2). However, the Chontrol Paste treatment did not provide a reduction in the number of stem sprouts per square metre, the stem sprout height per square metre or the root sucker height per square metre, when compared to the Paste blank treatment and the cut only treatment. Mortality was not reported in this study.

The results from the Ontario trial are inconsistent with those reported in the two British Columbia trials. There is concern that the inconsistency may be associated with the virulence of the fungal isolate PFC2139, which was isolated from a canker on red alder near Duncan, British Columbia. As *C. purpureum* is a living organism, it is possible that the virulence of PFC2139 was diminished due to the unfavourable environmental conditions found outside of its natural British Columbia habitat. If environmental conditions found in Ontario contributed to the diminished virulence of Chontrol Paste, different environmental conditions found across Canada may have an influence on the performance of the product to inhibit the sprouting or regrowth of trembling aspen.

Insufficient data were made available to provide the basis for a scientific conclusion as to the ability of Chontrol Paste to inhibit resprouting and regrowth of trembling aspen and claims to this effect must therefore be removed from the product label.

7.2 Phytotoxicity to target plants (including different cultivars) or to target plant products

Chondrostereum purpureum is pathogenic to a wide variety of species with pathogenicity expressed as sapwood stain, non-girdling cankers and silver leaf disease, but is seldom lethal unless the host is subjected to severe stress (Bishop 1978, Wall 1996).

The summary provided by the applicant concerning the environmental fate of *C. purpureum* states that the topical application of mycelium to the surface of cut stems would pose little risk to nearby vegetation at the time of application. Local dispersion of *C. purpureum* can be expected through airborne basidiospores. Because this fungus requires a fresh wound to enter a host, susceptible non-target vegetation is only at risk

following pruning or other activity that introduces wounds during times of active sporulation.

Polymorphisms in the mitochondrial DNA restriction patterns were used to assess genetic variation in the *C. purpureum* population. The distribution of DNA types suggests that gene flow has occurred across the entire continent of North America with little variation between east and central North America and west and central North America, but higher variation between the east and west. This implies that central North America acts as a bridge between the coastal populations.

Two field trials were performed to establish that disease symptoms were specifically from *C. purpureum*. Diagnostic molecular genetic markers were used to estimate infection frequency following a treatment with *C. purpureum* (Becker *et al.* 1999). The two trials were established in British Columbia on Sitka alder and trembling aspen (one trial each). Results indicated that the specific isolates released were recovered only from stumps that had been treated with the isolates in question. The applicant indicates that there was no cross-contamination with a paste formulation, suggesting that this method of application of *C. purpureum* is highly target specific.

Should damage to the desired conifers occur during a forest vegetation management release operation, the only active source of inoculum would be the Chontrol Paste, which will not have activity on the conifer species unless applied directly to the wound. Any increased source of inoculum, i.e., via spore release from infected deciduous stumps, would occur subsequent to the treatment period. Conifer wounds would be healed by then, thereby minimizing the likelihood of infection.

7.3 Economics

The harvest of commercial softwoods in Canada equals or exceeds the annual allowable cut of about 170 000 000 m^3 (Canadian Council of Forest Ministers 1993). According to the applicant, productivity of commercial forest lands needs to be increased through more intensive management in order for industry to maintain its present level. Currently, over 700 000 000 tree seedlings are planted annually in Canada, and the total cost for silviculture exceeds $800 000 000 (Canadian Council of Forest Ministers 1993). According to the applicant, this level of activity is likely to increase, requiring environmentally friendly options for vegetation management. Furthermore, the applicant anticipates that the use of Chontrol Paste will increase the efficacy of manual or mechanical control of hardwoods and reduce the reliance on chemical control.

7.4 Sustainability

It is expected that the use of Chontrol Paste will result in a reduction in herbicide use in the proposed use pattern of forestry rights-of-way and forest vegetation management settings. The frequency of mechanical brush control operations should also be reduced with the use of Chontrol Paste due to the increased control of weedy deciduous species.

Chontrol Paste represents a non-chemical control alternative for situations in which chemical treatment is no longer acceptable.

7.4.1 Survey of alternatives

7.4.1.1 Non-chemical control practices

Mechanical clearing techniques are commonly used for control of weedy deciduous species in utility rights-of-way and forest vegetation management situations. The frequency of operations depends on the weedy species present at the site and their associated resprouting tendency. Accordingly, sites inhabited by species with a prolific tendency to sprout require more frequent cutting activities.

7.4.1.2 Chemical control practices

Table 7.4.1.2.1 Alternative herbicides for brush control in rights-of-way and conifer release

TGAI	EP	Herbicide classification		Application rate
		Group	Mode of action	
Glyphosate	Eject Herbicide Capsules	9	Inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase	0.15 g a.i. per 5 cm tree stump diameter
Triclopyr	Garlon 4	4	Synthetic auxins	1.9 to 3.8 kg a.i./ha
Picloram + 2,4-D	Tordon 101	4	Synthetic auxins	5.5 to 7.6 kg a.i./ha for broadcast application 1:1 ratio with water for cut stump treatment
Hexazinone	Velpar	5	Inhibitor of photosynthesis at photosystem II Site A	4 to 8 kg a.i./ha

7.4.2 Compatibility with current management practices including integrated pest management

The common management practices for vegetation control in rights-of-way and conifer release sites rely largely on herbicide use. In certain settings, however, the use of herbicides is no longer acceptable, with brush saw cutting offering the only viable option

Chontrol Paste represents a non-chemical control alternative for situations in which chemical treatment is no longer acceptable.

7.4.1 Survey of alternatives

7.4.1.1 Non-chemical control practices

Mechanical clearing techniques are commonly used for control of weedy deciduous species in utility rights-of-way and forest vegetation management situations. The frequency of operations depends on the weedy species present at the site and their associated resprouting tendency. Accordingly, sites inhabited by species with a prolific tendency to sprout require more frequent cutting activities.

7.4.1.2 Chemical control practices

Table 7.4.1.2.1 Alternative herbicides for brush control in rights-of-way and conifer release

TGAI	EP	Herbicide classification		Application rate
		Group	Mode of action	
Glyphosate	Ezject Herbicide Capsules	9	Inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase	0.15 g a.i. per 5 cm tree stump diameter
Triclopyr	Garlon 4	4	Synthetic auxins	1.9 to 3.8 kg a.i./ha
Picloram + 2,4-D	Tordon 101	4	Synthetic auxins	5.5 to 7.6 kg a.i./ha for broadcast application 1:1 ratio with water for cut stump treatment
Hexazinone	Velpar	5	Inhibitor of photosynthesis at photosystem II Site A	4 to 8 kg a.i./ha

7.4.2 Compatibility with current management practices including integrated pest management

The common management practices for vegetation control in rights-of-way and conifer release sites rely largely on herbicide use. In certain settings, however, the use of herbicides is no longer acceptable, with brush saw cutting offering the only viable option

for weedy brush control. As such, Chontrol Paste is compatible with the current management systems in its role of enhancing the activity of a brush control operation.

7.4.3 Contribution to risk reduction

The use of Chontrol Paste offers an alternative to traditional chemicals by augmenting the efficacy of a brush cut operation and reducing the number of follow up cutting operations required. As such, this product may contribute to reduced chemical use in rights-of-way and forest vegetation management settings.

7.4.4 Information on the occurrence or possible occurrence of the development of resistance

Based on the mode of action of Chontrol Paste, the development of resistance is unlikely. The use of Chontrol Paste in conjunction with conventional herbicides may mitigate, in part, the development of herbicide resistance in hardwoods, as well as minimize the potential for resistance to *C. purpureum*.

7.5 Conclusions

Adequate efficacy data were provided to support the use of Chontrol Paste in rights-of-way and forest vegetation management, as proposed on the product label, to inhibit resprouting and regrowth of cut stumps of red alder and Sitka alder. Insufficient data were made available to provide the basis for a scientific conclusion as to the performance of Chontrol Paste to inhibit resprouting and regrowth of speckled alder and trembling aspen and these must, therefore, be removed from the product label. Adequate data were provided to address the issue of potential adverse effects upon conifer species with the use of Chontrol Paste as proposed in rights-of-way and forest vegetation management situations.

7.5.1 Summary

Table 7.5.1.1 Summary of label proposals and recommendations

Directions for use	Proposed	Recommendation (based on value assessment)	Comments
Application timing	"Chontrol Paste is best suited for use on fresh cut during summer or autumn."	Same	With clarification on the label as follows: "Apply Chontrol Paste to freshly cut stumps during the growing season, from summer to early fall, and when conditions are conducive for fungal growth and infection."

Directions for use	Proposed	Recommendation (based on value assessment)	Comments
Number of applications	1 per year	Same	
Application method	"Apply the Paste on the entire surface of cut stump."	Same	With clarification on the label as follows: "Apply a thin layer of Paste on the entire surface of cut stump within 30 minutes of cutting."
Crops	N/A		
Weeds	Inhibition of resprouting and regrowth from cut stumps of red alder, Sitka alder, speckled alder and trembling aspen.	Yes	Adequate efficacy demonstrated to accept claim of inhibition of resprouting and regrowth of cut stumps of red alder and Sitka alder.
		No	Insufficient data submitted to demonstrate acceptability of the proposed label claim for speckled alder and trembling aspen.
Spray volume	N/A		

8.0 Toxic Substances Management Policy considerations

During the review of Chontrol Paste, the PMRA has taken into account the federal TSMP[1] and has followed its Regulatory Directive DIR99-03[2]. It has been determined that this product does not meet TSMP Track 1 criteria because the active ingredient is a biological organism and hence is not subject to the criteria used to define persistence, bioaccumulation and toxicity properties of chemical control products. Furthermore, the MPCA does not contain any byproducts or microcontaminants that meet the TSMP Track 1 criteria. Impurities of toxicological concern are not expected to be present in the raw materials nor are they expected to be generated in sufficient quantities during the

---

1 The federal TSMP is available through Environment Canada's website at www.ec.gc.ca/toxics

2 DIR99-03, *The Pest Management Regulatory Agency's Strategy for Implementing the Toxic Substances Management Policy*, is available through the Pest Management Information Service. Phone: 1 800 267-6315 within Canada or 1 613 736-3799 outside Canada (long distance charges apply); Fax: (613) 736-3798; E-mail: pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca or through our website at www.pmra-arla.gc.ca

for weedy brush control. As such, Chontrol Paste is compatible with the current management systems in its role of enhancing the activity of a brush control operation.

7.4.3 Contribution to risk reduction

The use of Chontrol Paste offers an alternative to traditional chemicals by augmenting the efficacy of a brush cut operation and reducing the number of follow up cutting operations required. As such, this product may contribute to reduced chemical use in rights-of-way and forest vegetation management settings.

7.4.4 Information on the occurrence or possible occurrence of the development of resistance

Based on the mode of action of Chontrol Paste, the development of resistance is unlikely. The use of Chontrol Paste in conjunction with conventional herbicides may mitigate, in part, the development of herbicide resistance in hardwoods, as well as minimize the potential for resistance to *C. purpureum*.

7.5 Conclusions

Adequate efficacy data were provided to support the use of Chontrol Paste in rights-of-way and forest vegetation management, as proposed on the product label, to inhibit resprouting and regrowth of cut stumps of red alder and Sitka alder. Insufficient data were made available to provide the basis for a scientific conclusion as to the performance of Chontrol Paste to inhibit resprouting and regrowth of speckled alder and trembling aspen and these must, therefore, be removed from the product label. Adequate data were provided to address the issue of potential adverse effects upon conifer species with the use of Chontrol Paste as proposed in rights-of-way and forest vegetation management situations.

7.5.1 Summary

Table 7.5.1.1 Summary of label proposals and recommendations

Directions for use	Proposed	Recommendation (based on value assessment)	Comments
Application timing	"Chontrol Paste is best suited for use on fresh cut during summer or autumn."	Same	With clarification on the label as follows: "Apply Chontrol Paste to freshly cut stumps during the growing season, from summer to early fall, and when conditions are conducive for fungal growth and infection."

Directions for use	Proposed	Recommendation (based on value assessment)	Comments
Number of applications	1 per year	Same	
Application method	"Apply the Paste on the entire surface of cut stump."	Same	With clarification on the label as follows: "Apply a thin layer of Paste on the entire surface of cut stump within 30 minutes of cutting."
Crops	N/A		
Weeds	Inhibition of resprouting and regrowth from cut stumps of red alder, Sitka alder, speckled alder and trembling aspen.	Yes	Adequate efficacy demonstrated to accept claim of inhibition of resprouting and regrowth of cut stumps of red alder and Sitka alder.
		No	Insufficient data submitted to demonstrate acceptability of the proposed label claim for speckled alder and trembling aspen.
Spray volume	N/A		

8.0 Toxic Substances Management Policy considerations

During the review of Chontrol Paste, the PMRA has taken into account the federal TSMP[1] and has followed its Regulatory Directive DIR99-03[2]. It has been determined that this product does not meet TSMP Track 1 criteria because the active ingredient is a biological organism and hence is not subject to the criteria used to define persistence, bioaccumulation and toxicity properties of chemical control products. Furthermore, the MPCA does not contain any byproducts or microcontaminants that meet the TSMP Track 1 criteria. Impurities of toxicological concern are not expected to be present in the raw materials nor are they expected to be generated in sufficient quantities during the

---

1 The federal TSMP is available through Environment Canada's website at www.ec.gc.ca/toxics

2 DIR99-03, *The Pest Management Regulatory Agency's Strategy for Implementing the Toxic Substances Management Policy*, is available through the Pest Management Information Service. Phone: 1-800-267-6315 within Canada or 1-613-736-3799 outside Canada (long distance charges apply); Fax: (613) 736-3798; E-mail: pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca or through our website at www.pmra-arla.gc.ca

manufacturing process to present a risk to human health and safety. Also, there are no formulants of toxicological concern present in *Cp*-PFC2139 or Chontrol Paste.

9.0 Regulatory decision

The TGAI *Cp*-PFC2139 and associated EP Chontrol Paste containing *C. purpureum* strain PFC2139 to inhibit stump resprouting on red and Sitka alder have been granted temporary registration pursuant to Section 17 of the Pest Control Products Regulations, subject to the following:

- assurance from the company that a minimum product release titre of 10^6 CFU/kg will be maintained; and
- generation of a replacement acute pulmonary toxicity/pathogenicity study or an acute intraperitoneal injection infectivity study.

List of abbreviations

ATCC	American Type Culture Collection
a.i.	active ingredient
bw	body weight
CFU	colony forming unit
DNA	deoxyribonucleic acid
EP	end-use product
KF	Kenner Fecal
kg	kilogram
KTS	killed test substance
LOAEL	lowest observed adverse effect level
LD_{50}	lethal dose 50%
MAS	maximum average score
MIS	maximum irritation score
MPCA	microbial pest control agent
MRL	maximum residue limit
NAFTA TWG	North American Free Trade Agreement's Technical Working Group
NC	naive controls
NOAEL	no observed adverse effect level
NOEL	no observed effect level
NZW	New Zealand white
PCR	polymerase chain reaction
PMRA	Pest Management Regulatory Agency
RAPD	randomly amplified polymorphic DNA
SC	shelf controls
SCAR	sequence characterized amplified region
TCBS	thiosulphate citrate bile sucrose agar
TGAI	technical grade of the active ingredient
TSMP	Toxic Substances Management Policy
TS	test substance
USEPA	United States Environmental Protection Agency

Appendix I Toxicology

Table 1 Summary of toxicity and infectivity studies with *C. purpureum* strain PFC2139 and Chontrol Paste

STUDY	SPECIES/STRAIN AND DOSES	LD_{50} NOEL/NOAEL AND LOAEL	TARGET ORGAN/ SIGNIFICANT EFFECTS/COMMENTS
ACUTE STUDIES			
Oral toxicity/ pathogenicity	Rat – CD® (SD) – 5/sex treated with undiluted MPCA in sterile water, 5 g/kg bw or 1.2×10^6 CFU/kg bw.	LD_{50} greater than 5 g/kg bw or 1.2×10^6 CFU/kg bw	No clinical signs indicative of toxicity; no mortalities and no abnormalities on necropsy. LOW TOXICITY
Pulmonary toxicity/ pathogenicity	Rat – CD® (SD) – 20/sex treated with live MPCA in sterile water (TS), 0.1 mL or ~ 1.6×10^4 CFU/animal – 20/sex treated with heat-killed MPCA (KTS), 0.1 mL – 20/sex naive controls (NC) – 5/sex shelf controls (SC)	LD_{50} greater than 1.6×10^4 CFU/animal	– One male TS rat died on Day 2. – Clinical signs of toxicity included rough hair coat (5/20 ♂ TS and 1/20 ♀ TS) on days 2–4, laboured respirations (6/20 ♂ TS, 3/20 ♀ TS and 2/20 ♀ KTS) on days 0–2, nasal discharge (1/20 ♂ TS) on Day 0, and hunched posture (1/20 ♀ TS) on Day 0. – Between days 0 and 7, body weight losses were reported in 8/15 ♂ TS, 1/15 ♂ KTS, 1/5 ♂ SC, 3/15 ♀ TS, 4/15 ♀ KTS and 2/5 ♀ SC. Body weight losses were also reported in 1/10 ♀ TS, 3/10 ♀ KTS between days 7 and 14. – At necropsy, mottled/pale lung parenchyma, mottled lung intermediate lobe, and/or mottled left lungs were noted on most TS and KTS rats, including the male TS rat found dead on Day 2. No gross lesions were noted in animals from NC or SC groups. Significantly increased lung and associated lymph node and decreased kidney weights were reported in TS and KTS groups through Day 14. On Day 14, increased lung and lymph node and decreased liver weights were observed for male SC rats.

Appendix I Toxicology

Table 1 **Summary of toxicity and infectivity studies with *C. purpureum* strain PFC2139 and Chontrol Paste**

STUDY	SPECIES/STRAIN AND DOSES	LD_{50} NOEL/NOAEL AND LOAEL	TARGET ORGAN/ SIGNIFICANT EFFECTS/COMMENTS
ACUTE STUDIES			
Oral toxicity pathogenicity	Rat – $CD^{®}$ (SD) – 5/sex treated with undiluted MPCA in sterile water, 5 g/kg bw or 1.2×10^{7} CFU/kg bw.	LD_{50} greater than 5 g/kg bw or 1.2×10^{7} CFU/kg bw	No clinical signs indicative of toxicity; no mortalities and no abnormalities on necropsy. LOW TOXICITY
Pulmonary toxicity pathogenicity	Rat – $CD^{®}$ (SD) – 20/sex treated with live MPCA in sterile water (TS), 0.1 mL or 1.6×10^{6} CFU/animal – 20/sex treated with heat-killed MPCA (KTS), 0.1 mL – 20/sex naive controls (NC) – 5/sex shelf controls (SC)	LD_{50} greater than 1.6×10^{6} CFU/animal	– One male TS rat died on Day 2. – Clinical signs of toxicity included rough hair coat (5/20 ♂ TS and 1/20 ♀ TS) on days 2–4, laboured respirations (6/20 ♂ TS, 3/20 ♀ TS and 2/20 ♀ KTS) on days 0–2, nasal discharge (1/20 ♂ TS) on Day 0, and hunched posture (1/20 ♀ TS) on Day 0. – Between days 0 and 7, body weight losses were reported in: 8/15 ♂ TS, 1/15 ♂ KTS, 1/5 ♂ SC, 3/15 ♀ TS, 4/15 ♀ KTS and 2/5 ♀ SC. Body weight losses were also reported in 1/10 ♀ TS, 3/10 ♀ KTS between days 7 and 14. – At necropsy, mottled pale lung parenchyma, mottled lung intermediate lobe, and/or mottled left lungs were noted on most TS and KTS rats, including the male TS rat found dead on Day 2. No gross lesions were noted in animals from NC or SC groups. Significantly increased lung and associated lymph node and decreased kidney weights were reported in TS and KTS groups through Day 14. On Day 14, increased lung and lymph node and decreased liver weights were observed for male SC rats.

STUDY	SPECIES/STRAIN AND DOSES	LD_{50} NOEL/NOAEL AND LOAEL	TARGET ORGAN/ SIGNIFICANT EFFECTS/COMMENTS
ACUTE STUDIES			
			– *C. purpureum* was detected in lungs and associated lymph nodes of TS rats after dosing. *C. purpureum* was not detected in any of the tissues collected from the male TS rat found dead on Day 2 or in any of the tissues collected on days 7 and 14. – In the female NC group, 1/20 appeared lethargic and thin starting on Day 7, with hunched posture appearing on Day 9 and rough hair coat on Day 13. Body weight losses were observed in 5/15 between days 0 and 7, and in 4/10 between days 7 and 14–16. One female NC rat steadily lost weight while 4/10 recorded overall body weight losses. SLIGHTLY TOXIC, NOT PATHOGENIC SUPPLEMENTAL
Dermal toxicity	Rabbit – NZW – 5/sex treated with Chontrol Paste at 2000 mg/kg bw (3.4×10^4 CFU/kg bw) on ~150 cm^2 area of the back, occluded for 24 hours, then washed off.	LD_{50} greater than 3.4×10^4 CFU/kg bw	No mortalities and no abnormalities on necropsy. Following unwrapping , very slight erythema in 3/5 ♂ and 3/5 ♀ and well-defined erythema in 1/5 ♂ and 2/5 ♀ was observed. Irritation cleared by 72 hours. LOW TOXICITY
Dermal irritation	Rabbit – NZW – See dermal toxicity study above.	MIS 1.2/8 (1 h) MAS 0.6/8 (24, 48, 72 h)	See comments above. SLIGHTLY IRRITATING
Eye irritation	Rabbit – NZW – 3 females treated with undiluted Chontrol Paste, 0.1 mL, right eye	MIS 1.3/110 (1 h) MAS 0.7/110 (24, 48, 72 h)	Mild conjunctival redness was noted in one animal at the 24 and 48 hour timepoints, and in a second animal at the 24 hour timepoint. MINIMALLY IRRITATING

Appendix II Environmental assessment

Table 1 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target terrestrial organisms

Organism	Exposure	Test substance	Conclusions
Arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Birds	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Wild mammals	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Plants	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on information and data showing that the risks should be no greater than those caused by resident populations of *C. purpureum*.
Soil microorganisms	Acute	Not required	This data requirement was not triggered.
Non-arthropod invertebrates	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.

STUDY	SPECIES/STRAIN AND DOSES	LD_{50} NOEL/NOAEL AND LOAEL	TARGET ORGAN/ SIGNIFICANT EFFECTS/COMMENTS
ACUTE STUDIES			
			– *C. purpureum* was detected in lungs and associated lymph nodes of TS rats after dosing. *C. purpureum* was not detected in any of the tissues collected from the male TS rat found dead on Day 2 or in any of the tissues collected on days 7 and 14. In the female NC group, 1/20 appeared lethargic and thin starting on Day 7, with hunched posture appearing on Day 9 and rough hair coat on Day 13. Body weight losses were observed in 5/15 between days 0 and 7, and in 4/10 between days 7 and 14–16. One female NC rat steadily lost weight while 4/10 recorded overall body weight losses. SLIGHTLY TOXIC, NOT PATHOGENIC SUPPLEMENTAL
Dermal toxicity	Rabbit – NZW – 5/sex treated with Chontrol Paste at 2000 mg/kg bw (3.4×10^5 CFU/kg bw) on ~150 cm^2 area of the back, occluded for 24 hours, then washed off.	LD_{50} greater than 3.4×10^5 CFU/kg bw	No mortalities and no abnormalities on necropsy. Following unwrapping , very slight erythema in 3/5 ♂ and 3/5 ♀ and well-defined erythema in 1/5 ♂ and 2/5 ♀ was observed. Irritation cleared by 72 hours. LOW TOXICITY
Dermal irritation	Rabbit – NZW – See dermal toxicity study above.	MIS 1.2/8 (1 h) MAS 0.6/8 (24, 48, 72 h)	See comments above. SLIGHTLY IRRITATING
Eye irritation	Rabbit – NZW – 3 females treated with undiluted Chontrol Paste, 0.1 mL, right eye.	MIS 1.3/110 (1 h) MAS 0.7/110 (24, 48, 72 h)	Mild conjunctival redness was noted in one animal at the 24 and 48 hour timepoints, and in a second animal at the 24 hour timepoint. MINIMALLY IRRITATING

Appendix II Environmental assessment

Table 1 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target terrestrial organisms

Organism	Exposure	Test substance	Conclusions
Arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Birds	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Wild mammals	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Plants	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on information and data showing that the risks should be no greater than those caused by resident populations of *C. purpureum*.
Soil microorganisms	Acute	Not required	This data requirement was not triggered.
Non-arthropod invertebrates	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.

Table 2 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target aquatic organisms

Organism	Exposure	Test substance	Conclusions
Freshwater arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Freshwater fish	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Freshwater plants	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Estuarine and marine arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Estuarine and marine fish	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.

Table 2 Risks of *Chondrostereum purpureum* strain PFC2139 to non-target aquatic organisms

Organism	Exposure	Test substance	Conclusions
Freshwater arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Freshwater fish	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Freshwater plants	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Estuarine and marine arthropods	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.
Estuarine and marine fish	Acute	Waiver rationale submitted in lieu of data	The waiver rationale submitted by the applicant was **ACCEPTED**, based on the limited potential for risk.

References

Becker, E.M., A. Ball, and W.E. Hintz. 1999. PCR-based genetic markers for detection and infection frequency analysis of the biocontrol fungus *Chondrostereum purpureum* on Sitka alder and trembling aspen. *Biol. Control.* **15**: 71–80.

Bishop, G.C. 1978. *Studies on Silver Leaf Disease of Stone and Pome Fruit Trees*. Ph.D. Thesis, University of Adelaide.

Canadian Biodiversity. 2003. Canadian biodiversity website. Available at http://www.canadianbiodiversity.mcgill.ca. Accessed: 5 August 2003.

Canadian Council of Forest Ministers. 1993. Compendium of Forestry Statistics. Forestry Canada, Communications Division, Ottawa, Ontario.

Haeuschler, S., and D. Coates. 1986. *Autecological Characteristics of Selected Species that Compete with Conifers in British Columbia: a Literature Review*. Canada–British Columbia Forest Resource Development Agreement Report 001.

Hosie, R.C. 1979. *Native Trees of Canada*. 8th edition. Fitzhenry & Whiteside Ltd. Don Mills. Ontario.

Little, E.L., Jr. 1971. *Atlas of United States Trees, Volume 1, Conifers and Important Hardwoods*. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication. 1146.

Little, E.L., Jr. 1976, *Atlas of United States Trees, Volume 3, Minor Western Hardwoods*. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication. 1314.

MacLean, D.A. and M.G. Morgan. 1982. Long term growth and yield response of young fir to manual and chemical release from shrub competition. *For. Chron.* **59**: 177–183.

Smith, S.M. 1988. *Regeneration Delays and Natural Yields on Untreated Backlog Forest Land in British Columbia*. Canada–British Columbia Forest Resource Development Agreement Report 043.

Wall, R.E. 1996. *Pathogenicity of the Bioherbicide Fungus Chondrostereum purpureum to Some Trees and Shrubs of Southern Vancouver Island*. Forest Resource Development Agreement Report 246.

Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Pest Management Regulatory Agency

Note réglementaire

REG2004-09

Souche PFC2139 de *Chondrostereum purpureum*

Cp-PFC2139 (matière active de qualité technique)
Chontrol Paste (préparation commerciale)

En vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires* (RPA), on accorde une homologation temporaire à la matière active de qualité technique (MAQT) *Cp*-PFC2139, et à sa préparation commerciale (PC) Chontrol Paste, contenant le champignon d'origine naturelle *Chondrostereum purpureum*, souche PFC2139; ces produits sont destinés à être utilisés pour inhiber la production de rejets de souche chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka.

Cette note réglementaire présente un sommaire des données examinées et expose les raisons qui justifient la décision réglementaire concernant ces biopesticides.

(also available in English)

Le 22 novembre 2004

Ce document est publié par la Division des nouvelles stratégies et des affaires réglementaires, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec la :

Coordonnatrice des publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
I.A. 6605C
2720, promenade Riverside
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9

Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.pmra-arla.gc.ca
Service de renseignements :
1 800 267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3758

ISBN : 0-662-78404-9 (0-662-78405-7)
Numéro de catalogue : H113-7/2004-9F (H113-7/2004-9F-PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2004

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa, Ontario K1A 0S5.

Avant-propos

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada a accordé une homologation temporaire à la MAQT *Cp*-PFC2139 et à sa PC, Chontrol Paste, élaborée par MycoLogic Inc. L'ARLA de Santé Canada et la United States Environmental Protection Agency (EPA) ont examiné ces biopesticides dans le cadre du programme d'examen conjoint du Groupe de travail technique de l'Accord de libre-échange nord-américain (GTT-ALENA) sur les pesticides.

Chontrol Paste est un herbicide biologique qui contient 10^5 à 10^7 unités formant colonies par kilogramme (UFC/kg) de *Chondrostereum purpureum*, souche PFC2139 (*Cp*-PFC2139); il est destiné à inhiber la production de rejets de souche chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka. Le microorganisme actif, *C. purpureum*, est un champignon d'origine naturelle. Myco-Tech Paste, produit renfermant une autre souche de ce champignon (HQ-1), est homologué au Canada depuis 2002 (numéro d'homologation 27020).

On s'intéresse de plus en plus à l'utilisation d'agents antiparasitaires microbiens (AAM) comme solution de rechange aux pesticides conventionnels parce que ces agents semblent présenter un risque moins élevé pour la santé humaine et l'environnement que les pesticides classiques. Chontrol Paste constitue un substitut biologique possible aux herbicides chimiques.

La MAQT *Cp*-PFC2139 et la PC Chontrol Paste, utilisées pour inhiber la production de rejets de souche chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka, ont obtenu une homologation temporaire conformément à l'article 17 du RPA.

Un sommaire des résultats sur lesquels l'ARLA appuie sa décision est exposé dans le présent document.

Table des matières

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations 1
1.1 Description de la matière active et des impuretés 1
1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale 2
1.3 Détails relatifs aux utilisations et autres renseignements *(OCDE 2.1.3)* 3

2.0 Méthodes d'analyse 4
2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que préparé 4
2.1.1 Méthodes d'identification du microorganisme 4
2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches 5
2.1.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit de fabrication utilisé pour la production de la préparation commerciale . 5
2.1.4 Méthodes d'analyse des résidus pertinents dans le produit de fabrication 6
2.1.5 Méthodes visant à prouver l'absence de pathogènes pour l'humain et les mammifères 6
2.1.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de vie du microorganisme 7
2.2 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et des métabolites pertinents 7

3.0 Effets sur la santé humaine et animale 7
3.1 Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectiosité 7
3.2 Réactions d'hypersensibilité 8
3.3 Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient 8
3.3.1 Exposition professionnelle et occasionnelle 8

4.0 Résidus 9
4.1 Sommaire sur les résidus 9

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement 9
5.1 Sommaire du devenir et du comportement en milieu terrestre 9

6.0 Effets sur les espèces non ciblées 10
6.1 Sommaire des effets sur les espèces non ciblées 10
6.2 Sommaire intégré du devenir et de la toxicologie dans l'environnement 12

7.0 Renseignements et données sur l'efficacité 13
7.1 Efficacité 13
7.1.1 Utilisation prévue 13
7.1.2 Mode d'action 14
7.1.3 Nature du problème parasitaire 14

7.1.4 Efficacité contre les organismes nuisibles 14
7.2 Toxicité pour les végétaux ciblés (y compris différents cultivars) et les produits végétaux ciblés 20
7.3 Aspects économiques 21
7.4 Durabilité 21
7.4.1 Examen des solutions de remplacement 22
7.4.2 Compatibilité avec les pratiques de gestion en vigueur, y compris la lutte antiparasitaire intégrée 23
7.4.3 Contribution à l'atténuation du risque 23
7.4.4 Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle d'une résistance 23
7.5 Conclusions 23
7.5.1 Sommaire 24

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 25

9.0 Décision réglementaire 25

Liste des abréviations 27

Annexe I Toxicologie 29
Tableau 1 Sommaire des études sur la toxicité et l'infectiosité de la souche PFC2139 et de Chontrol Paste 29

Annexe II Évaluation environnementale 33
Tableau 1 Risques posés par la souche PFC2139 pour les organismes terrestres non ciblés 33
Tableau 2 Risques posés par la souche PFC2139 pour les organismes aquatiques non ciblés 34

Références 35

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description de la matière active et des impuretés

Description de l'AAM

Microorganisme actif	*Cp*-PFC2139
Fonction	Mycoherbicide
Nom latin	*Chondrostereum purpureum* (Pers. ex. Fr.) Pouzar, isolat PFC2139
Rang taxonomique	
Règne	Eumycètes
Embranchement	Dicaryomycètes
Sous-embranchement	Basidiomycètes
Classe	Holobasidiomycètes
Ordre	Aphyllophorales
Famille	Corticiacées
Genre	*Chondrostereum*
Espèce	*purpureum*
Souche	PFC2139
Renseignements relatifs à un brevet canadien	Brevet canadien 2171024 Brevet américain 5,587,158 pour la lutte biologique contre les arbres indésirables, Wall, R. *et al.*, 1996.
Pureté nominale de la matière active (m.a.)	10^7 UFC/kg
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La MAQT ne contient ni impureté, ni microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques (PGST). Le produit final doit respecter les normes relatives aux rejets de contaminants microbiologiques. Ni *C. purpureum*, ni les microorganismes qui lui sont étroitement apparentés au sein de la famille des corticiacées ne sont réputés produire des substances toxiques pour les mammifères.

1.2 **Propriétés physiques et chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale**

MAQT : *Cp*-PFC2139

Propriété	Résultat
Etat physique	Poudre blanche
Densité relative	1,5 - 2,5 g/mL
Viscosité	Non mentionnée
Pouvoir corrosif	Non mentionné (ni oxydant, ni réducteur)
Mouillabilité	Dispersable dans l'eau
pH (en solution)	5 - 8 en suspension à 10 %
Teneur en eau	Environ 17 %

PC : Chontrol Paste

Propriété	Résultat
Etat physique	Pâte blanche
Garantie	Nominale, 10^7 UFC/kg au minimum
Produits de formulation	Tous les produits de formulation entrant dans la composition de Chontrol Paste sont considérés comme relativement non toxiques (c.-à-d. qu'ils figurent sur les listes de matières inertes 4A ou 4B établies par l'EPA). Le produit ne contient aucun produit de formulation figurant sur la liste 1 de l'EPA ou faisant partie des substances de la voie 1 de la PGST.
Pouvoir corrosif	Non mentionné (ni oxydant, ni réducteur)
Mouillabilité	Dispersable dans l'eau
pH (en solution)	5 - 8 en suspension à 10 %
Teneur en eau	Environ 40 %

1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale

MAQT : *Cp*-PFC2139

Propriété	Résultat
État physique	Poudre blanche
Densité relative	1,5 - 2,5 g/mL
Viscosité	Non mentionnée
Pouvoir corrosif	Non mentionné (ni oxydant, ni réducteur)
Mouillabilité	Dispersable dans l'eau
pH (en solution)	5 - 8 en suspension à 10 %
Teneur en eau	Environ 17 %

PC : Chontrol Paste

Propriété	Résultat
État physique	Pâte blanche
Garantie	Nominale, 10^6 UFC/kg au minimum
Produits de formulation	Tous les produits de formulation entrant dans la composition de Chontrol Paste sont considérés comme relativement non toxiques (c.-à-d. qu'ils figurent sur les listes de matières inertes 4A ou 4B établies par l'EPA). Le produit ne contient aucun produit de formulation figurant sur la liste 1 de l'EPA ou faisant partie des substances de la voie 1 de la PGST.
Pouvoir corrosif	Non mentionné (ni oxydant, ni réducteur)
Mouillabilité	Dispersable dans l'eau
pH (en solution)	5 - 8 en suspension à 10 %
Teneur en eau	Environ 40 %

1.3 Détails relatifs aux utilisations et autres renseignements *(OCDE 2.1.3)*

Chontrol Paste est une PC contenant du mycélium vivant de l'isolat PFC2139 du champignon *C. purpureum*; elle est destinée à être appliquée sur la souche des arbres fraîchement coupés pour lutter contre les feuillus indésirables dans les emprises et pour gérer la végétation forestière. Le produit est conçu pour que la dose délivrée soit de 10^5 à 10^7 UFC/kg, soit une application de 5 g de Chontrol Paste par souche en moyenne (environ 5 000 UFC par souche), selon le diamètre de la souche. On propose l'utilisation de ce produit dans l'ensemble du Canada afin d'inhiber la formation de rejets et le recrû sur les souches d'aulne rouge (*Alnus rubra*), d'aulne de Sitka (*Alnus sinuata*), d'aulne rugueux (*Alnus rugosa*) et de peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*).

L'utilisation de *C. purpureum* comme outil de gestion de la végétation a été signalée pour la première fois aux Pays-Bas. Au Canada, on étudie l'emploi de *C. purpureum* comme mycoherbicide depuis 1990, et Myco-Tech Paste, une PC contenant la souche HQ-1 de *C. purpureum* et inhibant la formation de rejets, est homologuée depuis 2002 (numéro d'homologation 27020).

La souche PFC2139 a été isolée en 1994 d'un chancre formé sur un aulne rouge (*Alnus rubra* Bong) de l'île de Vancouver, près de Duncan, en Colombie-Britannique. Le chancre est apparu après inoculation, en juillet 1993, de la souche PFC2090, isolée en 1989 d'un pommier (*Malus* spp.) à Saanicton, en Colombie-Britannique. Il s'agit d'un champignon d'origine naturelle n'ayant pas subi de modification génétique.

C. purpureum est une espèce cosmopolite des zones tempérées du monde. Au Canada, ce champignon est ubiquiste; dans l'est des États-Unis, il est répandu, vers le sud, jusqu'au Delaware et, dans l'ouest, jusqu'en Oregon. *C. purpureum* est un champignon causant la carie blanche et il cause la maladie du plomb parasitaire, laquelle touche les arbres fruitiers. Cet agent pathogène des feuillus pénètre par les blessures et infecte une grande variété d'hôtes mais, malgré l'importance de sa gamme d'hôtes, son incidence est limitée. Il ne peut s'introduire que par des plaies récentes du xylème et il est faiblement pathogène, ne causant qu'une légère coloration filiforme de l'aubier chez nombre des sujets infectés; seuls les arbres très fragilisés en meurent. Les arbres sains combattent l'infection fongique grâce à des métabolites antifongiques (les phytoalexines) et à la compartimentation des tissus infectés. Étant donné que le champignon peut survivre comme saprophyte, la pression sélective en faveur d'une plus grande virulence ou une spécialisation accrue en matière d'hôtes est faible.

C. purpureum se propage par les nombreuses basidiospores à durée de vie courte que produisent ses organes fructifères fertiles (basidiocarpes ou sporophores); ces organes apparaissent habituellement un à trois ans après l'infection. Les sporophores produisent des spores seulement lorsqu'ils sont immergés dans l'eau ou lorsqu'ils croissent sur un substrat dont la teneur en eau est supérieure à 75 %. C'est pourquoi les précipitations constituent le facteur du milieu qui gouverne principalement l'émission des spores. Les spores libérées sont sensibles à la lumière du soleil et au manque d'humidité; elles

survivent rarement plus de 5 h, ce qui indique que le transport des spores sur de grandes distances est peu probable. L'infection d'un nouvel hôte commence lorsque des spores tombent sur une blessure récente du tronc ou à la surface d'une souche. Seules les plaies récentes permettront aux basidiospores, de petite taille, de pénétrer par capillarité dans le xylème jusqu'à une profondeur pouvant atteindre 20 mm; là, ils ne sont plus en compétition avec d'autres champignons. Dans un tel milieu, les spores peuvent germer en 24 h sous des températures optimales de 25 à 27 °C et rapidement coloniser les tissus du xylème.

C. purpureum est une espèce hétérothallique. Ce type de reproduction sexuée favorise l'allogamie, car la conjugaison n'est possible qu'entre des mycéliums génétiquement différents, mais compatibles. L'entière compatibilité entre les isolats canadiens et européens montre que *C. purpureum* conserve une population très diversifiée d'allèles sexuels. En conséquence, on peut prévoir un important degré de variation génétique chez cette espèce. On a effectivement observé une importante hétérogénéité lors d'études dans le cadre desquelles on a analysé des isolats de diverses régions d'Amérique du Nord par analyse des régions polymorphes amplifiées de l'ADN à l'aide de séquences aléatoires (ramdomly amplified polymorphic DNA [RAPD]) et des régions amplifiées à séquence caractérisée (sequence characterized amplified regions [SCAR]), comme on le décrit à la section 2.1.1. La diversité génétique semble être répartie selon un continuum dans l'ensemble de l'Amérique du Nord. Bien qu'on ait enregistré une répartition polarisée des polymorphismes ponctuels de restriction (types d'ADN nucléaire) sur le continent, on remarque une convergence des types au sein des populations du centre de l'Amérique du Nord, ce qui donne à penser que le flux génétique est ininterrompu à l'échelle du continent. Dans les cas où le génome entier a été examiné, on a constaté une variation plus grande dans une même population qu'entre des lieux ou des types d'hôte différents.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que préparé

2.1.1 Méthodes d'identification du microorganisme

Pour distinguer la souche PFC2139 des autres souches de *C. purpureum*, on a eu recours à une technique fondée sur la réaction en chaîne de la polymérase. Une amorce SCAR inhabituelle a été obtenue à l'analyse RAPD des souches de *C. purpureum*. La technique RAPD permet de détecter directement les polymorphismes de l'ADN en amplifiant l'ADN génomique dans des conditions de faible stringence, grâce à des amorces courtes (dix paires de bases) produites de façon aléatoire. De nombreux fragments d'ADN sont amplifiés et on observe le polymorphisme de l'ADN par électrophorèse, chaque souche produisant son profil électrophorétique propre. La méthode SCAR consiste à séquencer des fragments RAPD, puis à créer des amorces plus longues, contenant l'amorce RAPD initiale ainsi qu'une portion de la région amplifiée, si bien qu'on peut s'attendre à ce que les amorces SCAR amplifient spécifiquement le fragment RAPD duquel elles sont dérivées.

Au cours du criblage d'un ensemble d'amorces SCAR dérivées de fragments RAPD produits à partir de la souche PFC2139 au moyen de l'amorce RAPD OPD13, on a constaté fortuitement qu'une amorce SCAR, désignée AP-D13, amplifiait de multiples fragments de l'ADN génomique de *C. purpureum*. Lors de leur séparation par électrophorèse en gel d'agarose, ces fragments ont produit des profils de bandes propres à chaque souche. Grâce à cette caractéristique, une amorce à forte stringence bénéficie du principal avantage de la technique RADP, à savoir la production de profils de bandes propres à chaque souche à partir d'ADN génomique. L'amplification de la souche PFC2139 avec les amorces AP-D13 donne uniquement des fragments de 1 640, 1 400, 1 200, 1 000, 810, 760, 540 et 420 paires de bases. L'amorce SCAR AP-D13 peut être utilisée pour distinguer l'agent antiparasitaire microbien contenu dans l'AAM Chontrol Paste des autres souches de *C. purpureum* tant dans le cadre de la fabrication que sur le terrain.

2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches

La souche mère initiale de l'AAM est un isolat issu d'une culture pure sur gélose à 1,5 % d'extrait de malt. Des cubes de gélose sont conservés dans l'azote liquide chez MycoLogic, au Centre de foresterie du Pacifique, dans les dépôts de l'Institut de recherche biosystématique d'Agriculture Canada (numéro de référence 84M-89) ainsi qu'à l'American Type Culture Collection (ATCC 60854). La souche mère est régénérée à partir d'une souche de travail de la souche PFC2139 produite avec un isolat provenant de tiges coupées d'aulne rouge. La viabilité de la culture est vérifiée par mise en culture sur gélose à l'extrait de malt. On teste également la pureté au moyen de plaques de dénombrement aérobie Petrifilm 3M (mésophiles totaux) et de plaques Petrifilm 3M pour levures et moisissures. Enfin, pour évaluer la stabilité génétique, on effectue des essais en se servant de marqueurs SCAR propres à la souche. Si ces contrôles de la qualité sont satisfaisants, on utilise la culture pour inoculer des géloses à l'extrait de malt. Les cultures de 10 à 15 j sont conservées sous forme de cubes de gélose placés dans l'azote liquide. On prépare des lots de 100 à 200 cryotubes à la fois, qui sont utilisés au cours de l'année suivant leur production; au bout de cette période, on procède à la préparation d'une nouvelle souche de production. Seules les souches de production viables, exemptes de contamination et dont l'identification comme PFC2139 est positive sont mises en circulation aux fins de fabrication du produit.

2.1.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit de fabrication utilisé pour la production de la préparation commerciale

La MAQT est le produit d'un processus à deux étapes : une fermentation principale submergée suivie d'une fermentation en phase solide dans des sacs. Des contrôles de la qualité sont effectués tout au long de la production pour s'assurer que la pureté des cultures et le titre de l'AAM demeurent à l'intérieur de limites acceptables. L'identité génétique est confirmée au moyen des marqueurs SCAR propres à la souche décrits à la section 2.1.1. Le titre de *C. purpureum* viable est établi par étalement en boîte de Pétri de dilutions en série de la MAQT ou de la PC. Le titre de *C. purpureum* dans la MAQT doit

se situer entre 10^7 et 5×10^8 UFC/kg. Bien que la garantie pour la PC soit de 10^5 à 10^7 UFC/kg, on exige un titre de 10^6 à 10^7 UFC/kg pour que la préparation soit mise en circulation; il s'agit là d'une condition à l'homologation visant à compenser la baisse du titre au cours de l'entreposage.

2.1.4 Méthodes d'analyse des résidus pertinents dans le produit de fabrication

Ni *C. purpureum*, ni ses proches parents de la famille des corticiacées ne sont réputés produire des substances toxiques pour les mammifères. L'action phytopathogène de *C. purpureum* est attribuée en partie à sa capacité de produire des sesquiterpénoïdes phytotoxiques ou des dérivés de ceux-ci. Aucun des sesquiterpénoïdes produits en culture liquide n'est réputé toxique pour les mammifères. Il n'a jamais été signalé que *C. purpureum* produisait des génotoxines. Par conséquent, on ne juge pas nécessaire que soient présentées des méthodes analytiques de détection et de quantification de ces composés dans les préparations de la souche PFC2139.

On analyse le produit pour déterminer s'il y a contamination microbienne en se servant de plaques de dénombrement aérobie Petrifilm 3M (Division des produits de microbiologie de 3M) ainsi que de plaques Petrifilm 3M pour levures et moisissures conformément aux protocoles établis par 3M. La charge microbienne totale du produit doit être inférieure à 10^6 UFC/kg (moins de 10^3 UFC/g).

2.1.5 Méthodes visant à prouver l'absence de pathogènes pour l'humain et les mammifères

Les essais relatifs aux contaminants consistent à effectuer des dilutions en série de la PC, puis à procéder à des étalements en boîte de Pétri sur milieux sélectifs, ceci afin de détecter les éventuels pathogènes. De manière générale, on recommande l'utilisation de tels milieux pour isoler certains pathogènes contenus dans les aliments. On dénombre les streptocoques et les entérocoques fécaux sur gélose Difco Kenner Fecal (KF) à *Streptococcus*, conformément aux recommandations de la société Difco concernant le dénombrement des entérocoques dans les aliments. Les entérobactériacées, les coliformes (*Escherichia coli* et autres), les staphylocoques ainsi que *Staphylococcus aureus* sont comptés au moyen des plaques Petrifilm 3M sélectives appropriées. *Salmonella* et *Shigella* spp. sont dépistées sur gélose Difco SS. En ce qui concerne la détection de *Vibrio* spp., les échantillons sont dilués dans un milieu d'enrichissement (eau peptonée alcaline) et incubés durant 6 h à une température de 35 à 37 °C avant d'être mis en culture sur gélose thiosulfate, citrate, bile et saccharose (gélose TCBS préparée par la société Difco). Les normes permettant la mise en circulation de la PC, Chontrol Paste, sont les suivantes : biocontamination totale inférieure à 10^6 UFC/kg et absence de pathogènes détectables s'attaquant à l'humain ou aux mammifères. La limite de détection en ce qui concerne les agents pathogènes se situe entre 10^2 et 10^5 UFC/kg (en partant du principe qu'il y a détection dès que l'on observe une colonie).

2.1.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de vie du microorganisme

Une étude sur la stabilité à l'entreposage a révélé une importante perte d'activité en 90 j. On a évalué 5 lots de la PC avant et après une période d'entreposage de 90 j. On a établi le titre par dénombrement sur gélose des colonies viables. Le titre moyen était de $7,9 \times 10^6$ UFC/kg au jour zéro et le titre résiduel moyen au bout de 90 j était de $2,8 \times 10^6$ UFC/kg, ce qui représente 35 % du titre initial. Bien que le titre de départ et le titre final se situaient à l'intérieur des limites de la garantie, soit 10^5 à 10^7 UFC/kg, si l'activité au départ avait été plus faible (tout en demeurant dans les limites de la garantie), le titre après 90 j d'entreposage aurait pu être inférieur à la valeur minimale garantie. Le demandeur d'homologation doit donc veiller à ce que les normes permettant la mise en circulation du produit comprennent un titre d'au moins 10^6 UFC/kg. Les énoncés sur l'étiquette de la MAQT et de la PC concernant l'entreposage doivent faire état de la stabilité limitée du produit à l'entreposage.

2.2 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et des métabolites pertinents

Les utilisations proposées de Chontrol Paste ne comprennent pas l'application du produit sur des aliments destinés à la consommation humaine ou animale. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de calculer la limite maximale de résidus (LMR).

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

On trouve un sommaire à ce sujet au tableau 1 de l'annexe I.

3.1 Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectiosité

Les renseignements et les données présentés par Mycologic Inc. à l'appui de l'homologation de la souche PFC2139 et de Chontrol Paste ont été examinés dans la perspective de la santé et de la sécurité humaines; on a jugé que le dossier était assez complet pour permettre une décision au sujet de l'homologation. Les données fournies au chapitre de la caractérisation de la m.a. ainsi que du processus de fabrication et du contrôle de la qualité répondaient de manière adéquate aux questions de santé et de sécurité humaines posées par la souche PFC2139 ainsi que par les contaminants bactériens et fongiques s'infiltrant en cours de production.

Les études sur la toxicité et sur l'infectiosité aiguës présentées à l'appui de l'homologation de la souche *Cp*-PFC2139 et de Chontrol Paste ont été considérées. Le dossier comprenait des études acceptables sur la toxicité et la pathologie aiguës par voie orale et par voie cutanée, des études sur l'irritation oculaire à dose aiguë ainsi qu'une étude complémentaire sur la toxicité et l'infectiosité pulmonaires aiguës. L'étude sur la toxicité et la pathologie aiguës par voie cutanée contenait également suffisamment de données pour juger de l'irritation cutanée primaire. Aucun signe manifeste de toxicité n'a

été constaté à la suite de l'administration de la souche PFC2139 à des rats et des lapins par voie orale ou cutanée. La souche PFC2139 semblait légèrement toxique pour les rats lorsqu'elle était administrée par voie intratrachéale. Cependant, d'autres données et renseignements sont nécessaires pour interpréter correctement ces résultats, puisqu'on a observé des signes cliniques (p. ex. perte de poids corporel) tant chez les rats traités que chez les sujets témoins, et qu'aucune hypothèse n'a été proposée pour expliquer le cas de mortalité enregistré au 2e jour. Chez les lapins, l'administration de Chontrol Paste par voie cutanée a provoqué une légère irritation et, par voie oculaire, une irritation minime. La souche PFC2139 n'est pas réputée produire des substances toxiques pour les mammifères.

3.2 Réactions d'hypersensibilité

Aucune réaction d'hypersensibilité n'a été signalée au cours de la fabrication, de la préparation ou de l'application de Chontrol Paste. Néanmoins, comme tous les microorganismes, *C. purpureum* est considéré comme un sensibilisant potentiel. La surveillance et la déclaration des réactions d'hypersensibilité demeurent nécessaires.

3.3 Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient

3.3.1 Exposition professionnelle et occasionnelle

Les études sur la santé et la sécurité humaines qui ont été examinées ont montré que la toxicité de Chontrol Paste et de la souche PFC2139 est faible lorsque des doses aiguës de ces produits sont administrées par voie orale, pulmonaire ou cutanée et qu'il est peu probable que l'instillation intratrachéale de ces substances entraîne des effets pathogènes. Cependant, comme tous les pesticides microbiens, *C. purpureum* est considéré comme un sensibilisant potentiel, même si aucune réaction d'hypersensibilité n'a été rapportée. Les études sur l'irritation chez le lapin ont révélé que Chontrol Paste est un produit légèrement irritant pour la peau et qu'il entraîne une irritation oculaire minime.

Comme on l'a expliqué à la section 1.3, on propose d'utiliser *C. purpureum* comme herbicide biologique pour lutter contre la formation de rejets et le recrû sur les souches d'aulne rouge, d'aulne de Sitka, d'aulne rugueux et de peuplier faux-tremble dans les emprises ainsi que pour gérer la végétation forestière. Chontrol Paste est une pâte à employer en application topique à une dose moyenne de 5 g/souche (environ 5 000 UFC/souche), selon le diamètre de la souche, sur les souches d'arbres fraîchement coupés pendant l'été ou l'automne. Si l'on manipule le produit en conformité avec le mode d'emploi sur l'étiquette, le potentiel d'exposition par voie cutanée est limité. Le potentiel d'exposition occasionnelle est minime au cours de l'application; par contre, il augmente de manière importante après la fructification, puisqu'il peut alors y avoir exposition occasionnelle par inhalation des basidiospores libérées. Cependant, comme *C. purpureum* est très répandu partout au Canada, il est peu probable que le fait de

répandre intentionnellement la m.a. entraîne une hausse significative des quantités de basidiospores de cette espèce présentes naturellement dans l'environnement.

Compte tenu des propriétés biologiques de Chontrol Paste, de sa non-toxicité et de sa non-pathogénicité, de même que du profil d'emploi proposé, on recommande d'indiquer sur l'étiquette qu'il est nécessaire de porter un équipement de protection individuelle (EPI) classique (y compris des gants) lors de la manipulation du produit. En ce qui concerne la MAQT, on recommande également de préciser sur l'étiquette qu'il est nécessaire, afin d'éviter l'exposition par inhalation, de porter un EPI classique, en plus d'un appareil respiratoire anti-poussière et anti-brouillard de pulvérisation (préfixe du numéro d'approbation de la Mine Safety and Health Administration [MSHA]/du National Institute for Occupational Safety and Health [NIOSH] : TC-21C) ou d'un appareil respiratoire approuvé par le NIOSH muni d'un filtre –95, R-95, P-95 ou HE à produits biologiques. On recommande de placer ces énoncés sur l'étiquette parce qu'on a jugé que l'étude sur la toxicité et l'infectiosité pulmonaires aiguës était jugée complémentaire.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire sur les résidus

Comme Chontrol Paste n'est pas conçue pour traiter des aliments destinés à la consommation humaine ou animale, il n'était pas nécessaire d'établir la LMR de la souche PFC2139 en application de l'alinéa 4*d*) de la *Loi sur les aliments et drogues* (falsification d'un aliment au sens de l'article B.15.002 du titre 15 du *Règlement sur les aliments et drogues*). Bien que *C. purpureum* soit ubiquiste, aucun effet néfaste n'a été attribué à l'exposition à l'espèce par le régime alimentaire. En outre, on n'a observé aucun effet nocif dans le cadre de l'étude sur la toxicité aiguë par voie orale chez le rat et on n'a jamais rapporté de cas où l'AAM aurait produit des substances toxiques pour les mammifères. Quoique *C. purpureum* puisse être entraîné en milieux aquatiques lors d'épisodes de fortes précipitations (p. ex. par le ruissellement sur les souches traitées), on ne s'attend pas à ce que l'AAM prolifère dans de tels milieux. Qui plus est, la percolation à travers les sols et le traitement de l'eau potable dans les stations municipales réduiraient en ce cas la possibilité que des quantités significatives de la souche PFC2139 se retrouvent dans l'eau potable.

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement

5.1 Sommaire du devenir et du comportement en milieu terrestre

La m.a., *C. purpureum*, est un organisme ubiquiste, dont les populations au Canada se distribuent selon un continuum. La vaste diversité génétique et les possibilités de croisements éloignés qui caractérisent les isolats de *C. purpureum* indiquent que l'application d'un isolat unique au Canada aura des répercussions minimes sur les populations résidantes.

Chontrol Paste est une pâte mycélienne à employer en application topique; par conséquent, l'exposition des organismes terrestres et aquatiques à *C. purpureum* sera minime au moment de l'application. De plus, des modélisations du devenir dans l'environnement visant la sporulation de *C. purpureum* et la dispersion de ses spores semblent indiquer que l'accroissement de la densité de spores attribuable à l'utilisation de la souche PFC2139 comme agent de lutte biologique serait d'un ordre de grandeur comparable ou inférieur à celui de la densité de spores produite par les populations naturelles de *C. purpureum*.

Bien que les Pays-Bas aient étudié, dans le cadre d'une demande d'homologation de *C. purpureum* subséquemment retirée, la possibilité d'imposer une zone tampon de 100 à 500 m autour des arbres fruitiers et des vergers, l'examen critique des documents et des données présentés montrent qu'une telle zone n'est pas nécessaire. La proposition des Pays-Bas pourrait avoir été fondée sur une étude s'appuyant sur des hypothèses qui penchaient fortement en faveur d'une surestimation du risque et sur des méthodes qui reposaient en grande partie sur la modélisation de l'environnement. Des études empiriques montrent que le surcroît de spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* comme agent de lutte biologique serait d'un ordre de grandeur comparable ou inférieur à celui de la charge de spores naturelle. En outre, c'est la présence de plaies sur les arbres, et non la charge de spores, qui détermine principalement l'infection. En conséquence, il n'est pas nécessaire d'imposer une zone tampon autour des arbres fruitiers ou des arbres d'ornement susceptibles de subir élagages ou greffes puisque le risque encouru par les arbres sains est négligeable, tandis que les arbres blessés sont aussi vulnérables aux populations naturelles de *C. purpureum* qu'à la souche PFC2139.

6.0 Effets sur les espèces non ciblées

On trouve des sommaires à ce sujet aux tableaux 1 et 2 de l'annexe II.

6.1 Sommaire des effets sur les espèces non ciblées

C. purpureum est un champignon cosmopolite largement répandu dans plus de 40 pays de tous les continents, sauf l'Antarctique. En Amérique du Nord, on le trouve au Canada et dans les régions du nord des États-Unis (au sud de la Virginie, dans l'est du pays, et à partir du nord de la Californie, dans l'ouest du pays). On pense que l'aire de répartition naturelle de *C. purpureum* se borne aux zones tempérées et humides. Des recherches approfondies dans la littérature au moyen de diverses bases de données n'ont permis de trouver aucun texte signalant des effets néfastes sur les oiseaux, les mammifères, les poissons, les arthropodes, les invertébrés autres que les arthropodes ou les végétaux aquatiques, mais elles ont permis de découvrir de nombreux cas d'effets nocifs chez différents végétaux terrestres. La gamme d'hôtes naturels de *C. purpureum* comprend un éventail de végétaux terrestres, surtout des feuillus, chez qui le champignon, qui s'introduit principalement par les plaies récentes, cause la maladie du plomb parasitaire. Parmi les conifères, quelques cas d'infection ont été signalés même si, apparemment, d'autres saprophytes évincent rapidement *C. purpureum* des tissus infectés (Etheridge et

Morin, 1963). Les herbacées ne sont pas touchées par ce champignon. Les végétaux infectés souffrent entre autres d'occlusion du xylème et d'un stress hydrique subséquent; on signale la production de divers composés à l'origine des symptômes de maladie ou contribuant à l'apparition de ceux-ci (Spiers *et al.* , 1987), dont des enzymes endo-polygalacturonase extracellulaires (Miyairi *et al.*, 1977; Miyairi *et al.*, 1979) et des sesquiterpènes tels que le torréïol, l'acide sterpurique, le stérépolide et le dihydrostérépolide (Strunz *et al.*, 1997; Ayer *et al.*, 1981). On indique dans la littérature que la fructification et le remplacement par une deuxième vague d'espèces colonisatrices se produisent habituellement au bout de six mois à trois ans.

Dans une étude récente, Setliff (2002) a noté le potentiel d'épidémies de maladie du plomb parasitaire à grande échelle parmi les bétulacées et les salicacées (bouleaux et saules) après la récolte du bois ou à la suite de dégâts causés par les intempéries. Setliff a également remarqué que l'application de *C. purpureum* dans les zones où les arbres sont souvent élagués, comme les vergers, devrait être évitée. Ces conclusions sont principalement fondées sur la capacité de *C. purpureum* à coloniser les plaies récentes et à se disséminer dans l'environnement au moyen de nombreuses basidiospores à durée de vie courte produites par les sporophores fertiles après les épisodes de précipitations importantes. Spiers (1985) et Dye (1974) ont consigné la libération de milliers de basidiospores d'origine naturelle par mètre cube d'air; la production de ce bassin considérable de basidiospores constitue une stratégie efficace pour assurer la colonisation rapide des hôtes potentiels. On a tenté d'estimer le risque d'infection des végétaux terrestres non ciblés en calculant les émissions de spores de manière théorique grâce au modèle gaussien de diffusion d'un panache appliqué à des données environnementales provenant des Pays-Bas et du sud de l'île de Vancouver, en Colombie-Britannique. Sur l'île de Vancouver, les conditions climatiques sont particulièrement favorables à la fructification et à la sporulation; les données issues de cette région représentent donc le pire scénario de risque pour les arbres non ciblés en Amérique du Nord. De Jong *et al.* (1996) ont estimé d'après ces données que le surcroît de basidiocarpes résultant de l'introduction de *C. purpureum* était d'un ordre de grandeur comparable ou inférieur à celui des quantités de basidiocarpes produites naturellement. C'est la présence d'une plaie récente, et non la charge de basidiospores, qui est le facteur déterminant en ce qui concerne le risque d'infection d'un arbre hôte non ciblé. De plus, la vulnérabilité d'un arbre dépend de son état de santé. Il a été rapporté que les arbres hôtes sains réussissent à combattre l'infection en se compartimentant pour isoler les colonies envahissantes de *C. purpureum* (Wall, 1991).

Comme Chontrol Paste est une pâte à utiliser en application topique, l'exposition des organismes terrestres et aquatiques à *C. purpureum* sera minime au moment de l'application. En outre, *C. purpureum* n'est pas susceptible de se propager d'un arbre à l'autre par le système racinaire. De plus, les modélisations du devenir dans l'environnement visant la sporulation de *C. purpureum* et la dispersion de ses spores semblent indiquer que l'accroissement de la densité de spores attribuable à l'utilisation de la souche PFC2139 comme agent de lutte biologique serait d'un ordre de grandeur comparable ou inférieur à celui de la densité de spores produite par les populations

naturelles de *C. purpureum*. Il n'est pas vraisemblable que l'accroissement différentiel de la densité de spores fasse augmenter la probabilité que les organismes non ciblés subissent des effets néfastes.

6.2 Sommaire intégré du devenir et de la toxicologie dans l'environnement

Plusieurs articles et essais sur le terrain ayant fait l'objet de publications et traitant des effets de la souche PFC2139 sur l'environnement après utilisation de ce produit comme herbicide biologique ont été soumis à des fins d'examen. Parmi ceux-ci se trouvaient des analyses de la variation génétique au sein des populations indigènes de *C. purpureum*, des essais sur le terrain concernant le devenir dans l'environnement, des études sur la toxicologie dans l'environnement ainsi que des modélisations du devenir dans l'environnement prédisant les profils de sporulation et de dispersion des spores.

La m.a., *C. purpureum*, est un organisme ubiquiste, dont les populations sont réparties selon un continuum au Canada. Bien qu'on ait enregistré une répartition polarisée des polymorphismes ponctuels de restriction (types d'ADN nucléaire) sur le continent nord-américain, on remarque que les deux types sont présents autant sur une côte que sur l'autre, et qu'il y a convergence des types au sein des populations centrales, ce qui donne à penser que le flux génétique est ininterrompu à l'échelle du continent. Dans les cas où le génome en entier a été examiné, on a constaté une variation plus grande dans une même population qu'entre des lieux ou des types d'hôte différents. Dans le cadre d'une étude sur le terrain visant à mesurer la similarité génétique entre des souches de *C. purpureum* introduites dans le milieu à des fins de lutte antiparasitaire biologique et des isolats de la même espèce recueillis sur le terrain avant et après l'application, on a noté qu'il n'y avait pas, entre les isolats recueillis avant l'application et les isolats prélevés après l'application, d'accroissement de la similarité génétique avec les souches employées pour la lutte biologique. Ensemble, ces études indiquent que l'application d'une souche unique à des fins de lutte biologique partout en Amérique du Nord aura un effet minime sur la diversité génétique des populations naturelles de *C. purpureum*.

C. purpureum est ubiquiste dans les écosystèmes forestiers; les organismes non ciblés sont donc exposés à un grand nombre de spores. En dépit de cette caractéristique du champignon, des recherches poussées dans la littérature n'ont permis de découvrir aucun cas où *C. purpureum* aurait entraîné des effets néfastes directs chez les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes, les invertébrés autres que les arthropodes ou les végétaux aquatiques. Comme on s'y attendait, *C. purpureum* était désigné dans de nombreux articles comme l'agent responsable de la maladie du plomb parasitaire chez les végétaux terrestres. Des études sur la toxicité et l'infectiosité aiguës chez les mammifères ont montré que la souche PFC2139 (la MAQT) n'est pas toxique lorsque administrée par voie orale; cependant, par voie pulmonaire, elle est légèrement toxique, mais ni pathogène, ni infectieuse. Chontrol Paste (la PC) provoque une légère irritation cutanée, mais pour ainsi dire aucune irritation oculaire. Comme *C. purpureum* ne se multiplie pas à une température de 35 °C et qu'il meurt lorsque incubé de manière prolongée à 37 °C, il est peu probable qu'il exerce des effets pathogènes sur les

mammifères ou les oiseaux. On ne s'attend pas à ce que l'utilisation proposée de Chontrol Paste entraîne des effets nocifs chez les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes, les invertébrés autres que les arthropodes ou les végétaux aquatiques, compte tenu :

- qu'aucun effet néfaste n'a été signalé;
- que les études sur la toxicité et l'infectiosité aiguës chez les mammifères n'ont révélé aucune toxicité ou infectiosité notable;
- que *C. purpureum* est incapable de se multiplier à températures élevées.

Le risque que pose *C. purpureum* pour les végétaux terrestres non ciblés a fait l'objet de plusieurs études. Chontrol Paste est une pâte à appliquer sur les souches immédiatement après l'abattage. Compte tenu de la façon dont elle est préparée, on s'attend à ce que l'exposition des végétaux non ciblés au mycélium de *C. purpureum* soit minimale. Cette absence de répercussions sur les espèces non ciblées a été établie dans un article où l'on signalait qu'on avait récupéré une quantité nulle de la souche PFC2139 dans les zones contiguës à un site traité avec la pâte mycélienne. Les arbres non ciblés sont plus susceptibles d'être infectés par les spores émises par les organes fructifères croissant sur les souches traitées. Les modélisations de la sporulation et de la dispersion des spores dans l'environnement chez *C. purpureum* semblent indiquer que l'accroissement de la densité de spores attribuable à l'utilisation de la souche PFC2139 comme agent de lutte biologique serait d'un ordre de grandeur comparable ou inférieur à celui de la densité de spores produite par les populations naturelles de *C. purpureum*. Il n'est pas vraisemblable que l'accroissement différentiel de la densité de spores fasse augmenter la probabilité que les organismes non ciblés subissent des effets néfastes. C'est la présence de blessures sur les arbres, et non la charge de spores, qui est le facteur décisif d'infection, et l'état de santé général de l'arbre semble déterminer la progression de la maladie. Bien qu'on ait considéré la possibilité d'imposer une zone tampon autour des sites d'utilisation des produits de lutte biologique à base de *C. purpureum*, des études empiriques montrent que de telles zones ne sont pas nécessaires puisque le risque encouru par les arbres sains non ciblés est négligeable, tandis que les arbres blessés sont aussi vulnérables aux populations naturelles de *C. purpureum* qu'à celles qui sont introduites dans le milieu à des fins de lutte biologique.

7.0 Renseignements et données sur l'efficacité

7.1 Efficacité

7.1.1 Utilisation prévue

Chontrol Paste est destinée à être utilisée pour le traitement des souches de certains feuillus, dont l'aulne rouge, l'aulne de Sitka, l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble dans les emprises ainsi que dans les peuplements de conifères à éclaircir. L'application de Chontrol Paste vise à accroître l'efficacité du débroussaillement mécanique en inhibant la formation de rejets et le recrû sur les souches.

Le produit se présente sous la forme d'une pâte à étendre sur la surface entière de la souche des arbres fraîchement abattus dans le cadre des abattages effectués au cours de l'été ou de l'automne. Une bouteille de Chontrol Paste permet de traiter environ 200 souches d'un diamètre de 2 à 6 cm (ce qui représente quelque 5 g ou 5 000 UFC par souche). Le traitement réussi des souches avec Chontrol Paste devrait avoir pour effet de réduire la formation de rejets et le recrû et, par conséquent, de réduire la fréquence des activités d'abattage subséquentes ainsi que de favoriser l'établissement d'espèces désirables dans les emprises de même que pour gérer la végétation forestière.

7.1.2 Mode d'action

C. purpureum est un basidiomycète appartenant à l'ordre des Aphyllophorales, famille des Corticiacées. La souche PFC2139 a été isolée en 1994 d'un chancre formé sur un aulne rouge près de Duncan, en Colombie-Britannique. La gamme d'hôtes du champignon est vaste; *C. purpureum* parasite surtout les feuillus. Le champignon s'introduit par les blessures du xylème; seuls les arbres infectés très fragilisés (p. ex., troncs d'arbre annelés ou entaillés) peuvent mourir des suites d'une infection. L'infection par *C. purpureum* se traduit par le développement de la maladie du plomb parasitaire, chez certains arbres ou par une décoloration vasculaire et une nécrose, avec apparition de chancres sur le tronc. Il s'agit d'une espèce pathogène pionnière, qui survit rarement plus de trois ans; au terme de cette période, elle est remplacée par d'autres espèces d'organismes décomposeurs.

7.1.3 Nature du problème parasitaire

La plupart des végétaux à éliminer dans le cadre des activités de foresterie et de dégagement des emprises sont des feuillus comme les aulnes (*Alnus* spp.), les bouleaux (*Betula* spp.), les érables (*Acer* spp.) et les peupliers (*Populus* spp.). Ces espèces à croissance rapide étouffent les espèces de conifères d'intérêt économique qui sont à la base des industries canadiennes du bois d'œuvre et des pâtes et papiers (MacLean et Morgan, 1982; Haeuschler et Coates, 1986; Smith, 1988).

7.1.4 Efficacité contre les organismes nuisibles

7.1.4.1 Choix de l'isolat

L'une des premières étapes de la mise au point de la PC Chontrol Paste a consisté à évaluer plusieurs isolats de *C. purpureum* afin de déterminer lequel, parmi eux, possédait une virulence optimale; l'objectif était de trouver un isolat convenable pour poursuivre les essais.

Deux séries d'essais de recherche (une étude en laboratoire et une étude en serre) ont été menées pour évaluer la virulence de plusieurs isolats de *C. purpureum*, c'est-à-dire leur capacité à infecter et à faire périr les hôtes potentiels et leurs tissus.

Dans le cadre de l'étude en laboratoire, des cultures de tissus d'aulne rouge (*Alnus rubra*), de peuplier baumier (*Populus balsamifera*) et de ronce parviflore (*Rubus parviflorus*) ont été inoculées avec 18 isolats du champignon. Les résultats ont montré que la virulence de *C. purpureum* variait de façon significative d'un isolat à l'autre. De plus, on a constaté que la virulence du champignon variait selon le type de tissus ligneux.

Une étude en serre d'une durée d'un an a été effectuée pour évaluer la virulence de plusieurs isolats de *C. purpureum*, c'est-à-dire leur capacité à infecter et à faire périr des semis d'aulne rouge et de peuplier baumier. On a inoculé 10 isolats de *C. purpureum* à des semis de peuplier baumier, et 12 isolats à des semis d'aulne rouge. Un an après l'inoculation, on a constaté des différences significatives de virulence parmi les isolats de *C. purpureum* mis à l'essai. Les résultats ont également révélé des variations significatives, selon les semis, quant à la capacité de *C. purpureum* à infecter et à faire périr les hôtes, le peuplier baumier résistant mieux au champignon que l'aulne rouge.

Les résultats des essais visant à choisir un isolat prouvent que *C. purpureum* est capable d'infecter différentes espèces de feuillus et que le pourcentage de mortalité attribuable à cet agent pathogène varie selon les essences. En ce sens, ces essais appuient le profil d'emploi proposé.

7.1.4.2 Efficacité contre des espèces précises

Aulne rouge (*Alnus rubra*)
On trouve l'aulne rouge seulement dans les zones côtières de la Colombie-Britannique et le long des côtes du nord-ouest des États-Unis (site Web de la biodiversité canadienne, 2003; Hosie, 1979; Little, 1971). Un essai en ombrière et trois essais à l'échelle réelle ont montré l'efficacité de Chontrol Paste sur l'aulne rouge.

L'essai en serre, d'une durée d'un an (1995-1996), a été mené près de Victoria, en Colombie-Britannique. Lors de cet essai, on a inoculé 12 souches d'aulne rouge d'un an avec un isolat de *C. purpureum* parmi 12. On a effectué un relevé mensuel de mesures, notamment le nombre de pousses vivantes, le dépérissement des rejets et le pourcentage de mortalité. Un an après l'inoculation, tous les isolats de *C. purpureum* avaient provoqué une infection. Cependant, on a constaté des différences significatives de virulence selon les isolats. Parmi les 12 isolats mis à l'essai, 3 (2128u, 2139 et 3x-8u) ont eu un effet plus constant que les autres sur la croissance des aulnes rouges. Dans l'ensemble, les résultats confirment effectivement le caractère infectieux du champignon ainsi que les différences de virulence parmi les isolats, l'isolat 2139 se démarquant au chapitre de l'efficacité.

Trois essais à l'échelle réelle menés sur une période de deux ans (un essai en 1994, deux essais en 1995) ont permis d'obtenir des données sur des paramètres relatifs à l'effet sur la croissance, par exemple le pourcentage de mortalité et le nombre de rejets par souche au cours de l'année ayant suivi le traitement (trois essais), des deux années ayant suivi le traitement (deux essais), et des trois années ayant suivi le traitement (un essai).

- Un an après le traitement, Chontrol Paste avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 94 % (n = 3) et le nombre moyen de rejets par souche était alors de 2,7 (n = 2). Par comparaison, la simple coupe avait donné un pourcentage de mortalité de 49 % (n = 23) avec un nombre moyen de rejets par souche de 7,9 (n = 2).

- Deux ans après le traitement, Chontrol Paste avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 100 % (n = 2) et le nombre moyen de rejets par souche était alors de 0 (n = 1). Par comparaison, la simple coupe avait donné un pourcentage de mortalité moyen de 50,7 % (n = 2) et le nombre moyen de rejets par souche était alors de 11,3 (n = 1).

- Trois ans après le traitement, Chontrol Paste avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 100 % (n = 1). Par comparaison, la simple coupe avait donné un pourcentage de mortalité moyen de 15,4 % (n = 1).

Les données corroborent l'allégation selon laquelle l'application de Chontrol Paste inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge.

Aulne de Sitka (*Alnus sinuata*)
L'aulne de Sitka croît partout en Colombie-Britannique et son aire de répartition s'étend jusque dans l'ouest de l'Alberta et le nord-ouest des États-Unis (site Web de la biodiversité canadienne, 2003; Hosie, 1979; Little, 1976).

Un essai à l'échelle réelle d'une durée de deux ans (1995-1997) a été effectué près du ruisseau Ripperto, en Colombie-Britannique. Dans le cadre de cet essai, des cépées d'aulne de Sitka ont subi un type de traitement parmi huit, dont l'application de Chontrol Paste, l'application de pâte vierge de m.a., la simple coupe et l'application de triclopyr sur la souche. Les résultats recueillis un an après le traitement se trouvent au tableau 7.1.4.2.1 tandis que les résultats réunis deux ans après le traitement sont présentés au tableau 7.1.4.2.2.

Tableau 7.1.4.2.1 Traitement de cépées d'aulne de Sitka — Un an après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	80	4	16	100
Nombre moyen de rejets par cépée	1,8	14,1	10,2	0

Tableau 7.1.4.2.2 Traitement de cépées d'aulne de Sitka — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	88	7,4	11,2	98,2
Nombre moyen de rejets par cépée	0,7	16,4	12,1	0,1

Étant donné que les aires de répartition de l'aulne rouge et de l'aulne de Sitka se recoupent et se limitent à la Colombie-Britannique, les conditions du milieu, par exemple la température, l'humidité et la lumière, nécessaires à la germination des spores et à la croissance du mycélium seront similaires pour les deux espèces. Il est par conséquent justifié d'utiliser les données relatives à l'aulne rouge à l'appui des allégations concernant l'aulne de Sitka.

Les données corroborent l'allégation selon laquelle l'application de Chontrol Paste inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne de Sitka.

Aulne rugueux (*Alnus rugosa*)
L'aulne rugueux est largement répandu au Canada, à l'exception des régions côtières de la Colombie-Britannique. Son aire de répartition comprend également les États du nord des États-Unis qui bordent les Grands Lacs ainsi que les États de la Nouvelle-Angleterre (site Web de la biodiversité canadienne, 2003; Hosie, 1979).

Tableau 7.1.4.2.1 Traitement de cépées d'aulne de Sitka — Un an après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	80	4	16	100
Nombre moyen de rejets par cépée	1,8	14,1	10,2	0

Tableau 7.1.4.2.2 Traitement de cépées d'aulne de Sitka — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	88	7,4	11,2	98,2
Nombre moyen de rejets par cépée	0,7	16,4	12,1	0,1

Étant donné que les aires de répartition de l'aulne rouge et de l'aulne de Sitka se recoupent et se limitent à la Colombie-Britannique, les conditions du milieu, par exemple la température, l'humidité et la lumière, nécessaires à la germination des spores et à la croissance du mycélium seront similaires pour les deux espèces. Il est par conséquent justifié d'utiliser les données relatives à l'aulne rouge à l'appui des allégations concernant l'aulne de Sitka.

Les données corroborent l'allégation selon laquelle l'application de Chontrol Paste inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne de Sitka.

Aulne rugueux (*Alnus rugosa*)

L'aulne rugueux est largement répandu au Canada, à l'exception des régions côtières de la Colombie-Britannique. Son aire de répartition comprend également les États du nord des États-Unis qui bordent les Grands Lacs ainsi que les États de la Nouvelle-Angleterre (site Web de la biodiversité canadienne, 2003; Hosie, 1979).

Un essai à l'échelle réelle d'une durée de deux ans (1995-1997) a été mené près de Thessalon, en Ontario. Dans le cadre de cet essai, des cépées d'aulne rugueux ont subi un type de traitement parmi huit, dont l'application de Chontrol Paste, l'application de pâte vierge de m.a., la simple coupe et l'application de triclopyr sur la souche. Les résultats recueillis un an après le traitement sont résumés au tableau 7.1.4.2.3, tandis que les résultats réunis deux ans après le traitement sont présentés au tableau 7.1.4.2.4.

Tableau 7.1.4.2.3 Traitement de cépées d'aulne rugueux — Un an après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	12	0	0	94
Nombre moyen de rejets par cépée	8,9	21,6	21,4	1,2

Tableau 7.1.4.2.4 Traitement de cépées d'aulne rugueux — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	26	0	0	92
Nombre moyen de rejets par cépée	5,5	16,0	15,4	1,1

Compte tenu de la répartition de l'aulne rugueux au Canada, les données présentées sont insuffisantes pour fonder une conclusion scientifique quant à l'efficacité de Chontrol Paste à inhiber la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rugueux. En conséquence, il faut retirer de l'étiquette l'allégation concernant l'aulne rugueux.

Peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*)
Le peuplier faux-tremble est largement répandu au Canada et aux États-Unis (Hosie, 1979; Little, 1971).

Trois essais à l'échelle réelle ont été effectués à deux sites en Colombie-Britannique et à un site en Ontario. Ils ont permis de recueillir des données concernant l'effet d'une application de Chontrol Paste sur la croissance chez le peuplier faux-tremble un an après le traitement et deux ans après le traitement.

Une étude d'une durée de un an (1996-1997) menée près de Chetwynd, en Colombie-Britannique, a montré que l'application de Chontrol Paste avait un effet significatif sur le taux de mortalité des souches et sur l'indice de santé des souches si l'on prenait comme point de comparaison l'incidence de l'application de pâte vierge de m.a. ou la simple coupe. Un an après le traitement :

- Chontrol Paste avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 37 %;
- la pâte vierge de m.a. avait entraîné un pourcentage de mortalité moyen de 21 %;
- la simple coupe avait donné un pourcentage de mortalité moyen de 15 %;
- l'application de triclopyr sur la souche avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 100 %.

Les données fournies indiquent que l'effet de Chontrol Paste est considérablement supérieur à celui de l'application de pâte vierge de m.a. ou de la simple coupe.

Une étude d'une durée de deux ans (1995-1997) réalisée au nord-ouest de Grand Forks, en Colombie-Britannique, a révélé que l'application de Chontrol Paste avait un effet significatif sur le pourcentage de mortalité des souches comparativement au traitement avec la pâte vierge de m.a. ou de la simple coupe. Les résultats recueillis deux ans après les divers traitements sont présentés au tableau 7.1.4.2.5. Les données fournies montrent que l'application de Chontrol Paste est considérablement plus efficace que le traitement avec la pâte vierge ou la simple coupe et qu'elle est d'une efficacité comparable à celle du traitement au triclopyr.

Tableau 7.1.4.2.5 Traitement de cépées de peuplier faux-tremble — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	84	14	31	97
Nombre moyen de rejets par m^2	2,2	3,4	4,2	0,4

Une étude d'une durée de deux ans (1995-1997) réalisée au nord de Iron Bridge, en Ontario, a révélé que l'application de Chontrol Paste permettait de réduire le nombre de

Un essai à l'échelle réelle d'une durée de deux ans (1995-1997) a été mené près de Thessalon, en Ontario. Dans le cadre de cet essai, des cépées d'aulne rugueux ont subi un type de traitement parmi huit, dont l'application de Chontrol Paste, l'application de pâte vierge de m.a., la simple coupe et l'application de triclopyr sur la souche. Les résultats recueillis un an après le traitement sont résumés au tableau 7.1.4.2.3, tandis que les résultats réunis deux ans après le traitement sont présentés au tableau 7.1.4.2.4.

Tableau 7.1.4.2.3 Traitement de cépées d'aulne rugueux — Un an après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	12	0	0	94
Nombre moyen de rejets par cépée	8.9	21.6	21.4	1.2

Tableau 7.1.4.2.4 Traitement de cépées d'aulne rugueux — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	Pâte vierge	Simple coupe	Application de triclopyr sur la souche
Pourcentage moyen de mortalité	26	0	0	92
Nombre moyen de rejets par cépée	5.5	16.0	15.4	1.1

Compte tenu de la répartition de l'aulne rugueux au Canada, les données présentées sont insuffisantes pour fonder une conclusion scientifique quant à l'efficacité de Chontrol Paste à inhiber la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rugueux. En conséquence, il faut retirer de l'étiquette l'allégation concernant l'aulne rugueux.

Peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*)
Le peuplier faux-tremble est largement répandu au Canada et aux États-Unis (Hosie, 1979; Little, 1971).

Trois essais à l'échelle réelle ont été effectués à deux sites en Colombie-Britannique et à un site en Ontario. Ils ont permis de recueillir des données concernant l'effet d'une application de Chontrol Paste sur la croissance chez le peuplier faux-tremble un an après le traitement et deux ans après le traitement.

Une étude d'une durée de un an (1996-1997) menée près de Chetwynd, en Colombie-Britannique, a montré que l'application de Chontrol Paste avait un effet significatif sur le taux de mortalité des souches et sur l'indice de santé des souches si l'on prenait comme point de comparaison l'incidence de l'application de pâte vierge de m.a. ou la simple coupe. Un an après le traitement :

- Chontrol Paste avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 37 %;
- la pâte vierge de m.a. avait entraîné un pourcentage de mortalité moyen de 21 %;
- la simple coupe avait donné un pourcentage de mortalité moyen de 15 %;
- l'application de triclopyr sur la souche avait produit un pourcentage de mortalité moyen de 100 %.

Les données fournies indiquent que l'effet de Chontrol Paste est considérablement supérieur à celui de l'application de pâte vierge de m.a. ou de la simple coupe.

Une étude d'une durée de deux ans (1995-1997) réalisée au nord-ouest de Grand Forks, en Colombie-Britannique, a révélé que l'application de Chontrol Paste avait un effet significatif sur le pourcentage de mortalité des souches comparativement au traitement avec la pâte vierge de m.a. ou de la simple coupe. Les résultats recueillis deux ans après les divers traitements sont présentés au tableau 7.1.4.2.5. Les données fournies montrent que l'application de Chontrol Paste est considérablement plus efficace que le traitement avec la pâte vierge ou la simple coupe et qu'elle est d'une efficacité comparable à celle du traitement au triclopyr.

Tableau 7.1.4.2.5 Traitement de cépées de peuplier faux-tremble — Deux ans après le traitement

	Chontrol Paste	**Pâte vierge**	**Simple coupe**	**Application de triclopyr sur la souche**
Pourcentage moyen de mortalité	84	14	31	97
Nombre moyen de rejets par m²	2,2	3,4	4,2	0,4

Une étude d'une durée de deux ans (1995-1997) réalisée au nord de Iron Bridge, en Ontario, a révélé que l'application de Chontrol Paste permettait de réduire le nombre de

drageons par mètre carré (0,05 drageon/m^2) par rapport à l'application de pâte vierge de m.a. (0,56 drageon /m^2) et à la simple coupe (0,59 drageon/m^2). Cependant, l'application de Chontrol Paste n'a pas entraîné de diminution du nombre de rejets de souche par m^2, de la hauteur des rejets de souche par m^2 non plus que de la hauteur des drageons par m^2 par rapport à l'application de pâte vierge ou à la simple coupe. On n'a pas recueilli de données sur le pourcentage de mortalité dans le cadre de cette étude.

Les résultats obtenus au cours de l'étude menée en Ontario ne concordent pas avec ceux des deux essais effectués en Colombie-Britannique. Il est à craindre que les écarts s'expliquent par la virulence de la souche PFC2139, qui a été isolée d'un chancre formé sur un aulne rouge près de Duncan, en Colombie-Britannique. Étant donné que *C. purpureum* est un organisme vivant, il est possible que sa virulence ait été affaiblie parce que les conditions du milieu à l'extérieur de son habitat naturel de la Colombie-Britannique lui seraient défavorables. Si les conditions ambiantes en Ontario ont effectivement contribué à réduire la virulence de la souche de *C. purpureum* entrant dans la composition de Chontrol Paste, il se peut que d'autres conditions que l'on trouve au Canada influent sur l'efficacité du produit à inhiber la formation de rejets de souche ou le recrû chez le peuplier faux-tremble.

Les données présentées sont insuffisantes pour fonder une conclusion scientifique quant à l'efficacité de Chontrol Paste à inhiber la formation de rejets de souche et le recrû chez le peuplier faux-tremble. En conséquence, il faut retirer de l'étiquette l'allégation concernant le peuplier faux-tremble.

7.2 Toxicité pour les végétaux ciblés (y compris différents cultivars) et les produits végétaux ciblés

C. purpureum est pathogène pour une vaste gamme d'espèces. La pathogénicité du champignon se traduit par la coloration de l'aubier, l'apparition de chancres ne causant pas d'annélation et le développement de la maladie du plomb parasitaire. Cependant, *C. purpureum* est rarement mortel, sauf si l'hôte est soumis à un stress important (Bishop, 1978; Wall, 1996).

Dans le résumé soumis par le demandeur d'homologation au sujet du devenir de *C. purpureum* dans l'environnement, on affirme que l'application topique de mycélium de ce champignon présente peu de risques pour la végétation environnante au moment de l'application. On peut prévoir une dissémination de *C. purpureum* à l'échelle locale par l'émission de basidiospores transportées dans l'air. Comme le champignon ne peut infecter un hôte qu'en s'introduisant par une plaie récente, les végétaux vulnérables non ciblés courent un risque uniquement après l'élagage ou toute autre activité qui cause des blessures pendant une période de sporulation.

On a évalué la variation génétique au sein de la population de *C. purpureum* en se fondant sur les polymorphismes de restriction de l'ADN mitochondrial. La répartition des types d'ADN semble indiquer que le flux génétique est ininterrompu dans l'ensemble du

continent nord-américain et qu'il y aurait peu de variations entre les régions de l'est et celles du centre de l'Amérique du Nord de même qu'entre les régions du centre et celles de l'ouest du continent, mais une variation plus grande entre les populations de l'est et de l'ouest; cela implique que le centre de l'Amérique du Nord joue un rôle de pont entre les populations côtières.

On a réalisé deux essais sur le terrain afin de déterminer si les symptômes de maladie étaient attribuables spécifiquement à *C. purpureum*. On a utilisé des marqueurs génétiques moléculaires de diagnostic pour évaluer la fréquence d'infection après un traitement au *C. purpureum* (Becker *et al.*, 1999). Les deux essais ont été effectués en Colombie-Britannique et portaient sur l'aulne de Sitka et le peuplier faux-tremble (un essai sur chacune des espèces). Les résultats montrent que les isolats appliqués ont été récupérés uniquement sur les souches traitées avec les isolats en question. Le demandeur a indiqué qu'il n'y avait pas eu de contamination croisée avec la PC, ce qui laisse supposer que cette méthode de traitement permet très bien de circonscrire l'application de *C. purpureum* aux sujets ciblés.

S'il arrivait que des conifères désirables soient blessés au cours d'une application, la seule source active d'inoculum serait Chontrol Paste, qui ne pourra pas toucher les conifères à moins d'être appliquée directement sur une plaie. Toute autre source d'inoculum, par exemple les spores émises à partir des souches de feuillus infectées, n'apparaîtrait qu'après la période de traitement et, à ce moment, les blessures des conifères seraient guéries, ce qui réduirait au minimum la probabilité d'infection.

7.3 Aspects économiques

Au Canada, la récolte des espèces commerciales de conifères atteint ou dépasse les possibilités de coupe annuelle, c'est-à-dire quelque 170 000 000 m^3 (Conseil canadien des ministres des forêts, 1993). Selon le demandeur d'homologation, pour que l'industrie puisse maintenir le rythme actuel, il faut accroître la productivité des forêts d'intérêt commercial grâce à une gestion plus active. À l'heure actuelle, plus de 700 millions de semis d'arbres sont plantés chaque année au Canada et le coût total de la sylviculture est supérieur à 800 millions de dollars (Conseil canadien des ministres des forêts, 1993). Le demandeur d'homologation soutient que l'exploitation risque de s'intensifier, ce qui rend nécessaire l'adoption d'outils de gestion de la végétation écologiques. En outre, le demandeur d'homologation prévoit que l'utilisation de Chontrol Paste permettra d'améliorer l'efficacité de la lutte manuelle ou mécanique contre les feuillus et de moins recourir à la lutte chimique.

7.4 Durabilité

On s'attend à ce que l'application de Chontrol Paste selon le profil d'emploi proposé permette de réduire l'utilisation d'herbicides dans les emprises ainsi que pour gérer la végétation forestière. La fréquence des activités de débroussaillement devrait également diminuer avec l'utilisation de Chontrol Paste, puisque ce produit permettrait de lutter plus

efficacement contre les feuillus envahissants et, par là même, d'allonger le délai entre les interventions. L'emploi de Chontrol Paste constitue un substitut à la lutte chimique dans les cas où celle-ci n'est plus acceptable.

7.4.1 Examen des solutions de remplacement

7.4.1.1 Méthodes de lutte non chimique

On procède habituellement à des coupes mécaniques pour lutter contre les feuillus envahissants dans les emprises d'utilité publique ainsi que pour gérer la végétation forestière. La fréquence des interventions dépend des espèces présentes sur le site et de leur tendance à produire des rejets de souche. Ainsi, dans les secteurs colonisés par des espèces produisant beaucoup de rejets, il est nécessaire de pratiquer des coupes fréquentes.

7.4.1.2 Méthodes de lutte chimique

Tableau 7.4.1.2.1 Herbicides de remplacement utilisés pour le débroussaillement des emprises et pour l'éclaircissement des peuplements de conifères

MAQT	PC	Classification des herbicides		Dose d'application
		Groupe	Mode d'action	
Glyphosate	Capsules d'herbicide Eject	9	Inhibiteur de l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSP)	0,15 g de m.a. par 5 cm de diamètre de la souche de l'arbre
Triclopyr	Garlon 4	4	Auxine synthétique	1,9 à 3,8 kg m.a./ha
Picloram + 2,4-D	Tordon 101	4	Auxine synthétique	5,5 à 7,6 kg m.a./ha pour le traitement en pleine surface; pour le traitement des souches, proportion 1 : 1 dans l'eau
Hexazinone	Velpar	5	Inhibiteur de la photosynthèse au site A du photosystème II	4 à 8 kg m.a./ha

efficacement contre les feuillus envahissants et, par là même, d'allonger le délai entre les interventions. L'emploi de Chontrol Paste constitue un substitut à la lutte chimique dans les cas où celle-ci n'est plus acceptable.

7.4.1 Examen des solutions de remplacement

7.4.1.1 Méthodes de lutte non chimique

On procède habituellement à des coupes mécaniques pour lutter contre les feuillus envahissants dans les emprises d'utilité publique ainsi que pour gérer la végétation forestière. La fréquence des interventions dépend des espèces présentes sur le site et de leur tendance à produire des rejets de souche. Ainsi, dans les secteurs colonisés par des espèces produisant beaucoup de rejets, il est nécessaire de pratiquer des coupes fréquentes.

7.4.1.2 Méthodes de lutte chimique

Tableau 7.4.1.2.1 Herbicides de remplacement utilisés pour le débroussaillement des emprises et pour l'éclaircissement des peuplements de conifères

MAQT	PC	Classification des herbicides		Dose d'application
		Groupe	Mode d'action	
Glyphosate	Capsules d'herbicide Eject	9	Inhibiteur de l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSP)	0,15 g de m.a. par 5 cm de diamètre de la souche de l'arbre
Triclopyr	Garlon 4	4	Auxine synthétique	1,9 à 3,8 kg m.a./ha
Picloram + 2,4-D	Tordon 101	4	Auxine synthétique	5,5 à 7,6 kg m.a./ha pour le traitement en pleine surface; pour le traitement des souches, proportion 1 : 1 dans l'eau
Hexazinone	Velpar	5	Inhibiteur de la photosynthèse au site A du photosystème II	4 à 8 kg m.a./ha

7.4.2 Compatibilité avec les pratiques de gestion en vigueur, y compris la lutte antiparasitaire intégrée

Les pratiques adoptées habituellement pour lutter contre les végétaux dans les emprises ainsi que pour éclaircir les peuplements de conifères reposent en grande partie sur l'utilisation d'herbicides. Dans certains endroits, cependant, l'emploi de telles substances n'est plus acceptable; la seule solution qui reste alors pour combattre la végétation envahissante est le débroussaillement à la scie mécanique. Par conséquent, l'utilisation de Chontrol Paste est compatible avec les pratiques de gestion en vigueur puisqu'elle permet d'accroître l'efficacité des activités de débroussaillement.

7.4.3 Contribution à l'atténuation du risque

L'utilisation de Chontrol Paste est un substitut à l'emploi de produits chimiques classiques puisqu'elle permet d'accroître l'efficacité des activités de débroussaillement et de diminuer la fréquence des coupes subséquentes. À ce titre, cette PC pourrait contribuer à réduire l'utilisation de substances chimiques dans les emprises ainsi que pour mieux gérer la végétation forestière.

7.4.4 Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle d'une résistance

Compte tenu du mode d'action de Chontrol Paste, l'acquisition d'une résistance est peu probable. L'utilisation combinée de Chontrol Paste et d'herbicides classiques pourrait atténuer, du moins en partie, l'acquisition d'une résistance aux herbicides chez les feuillus en plus de réduire au minimum le potentiel d'acquisition d'une résistance à *C. purpureum*.

7.5 Conclusions

Des données sur l'efficacité adéquates ont été fournies par le demandeur à l'appui de l'utilisation de Chontrol Paste, conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette, dans les emprises ainsi que dans la gestion de la végétation forestière pour inhiber la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka. Les données présentées sont insuffisantes pour fonder une conclusion scientifique quant à l'efficacité de Chontrol Paste à inhiber la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble. En conséquence, il faut retirer de l'étiquette les allégations concernant ces deux essences. Le demandeur a soumis des données adéquates pour répondre aux préoccupations concernant les effets néfastes sur les conifères que pourrait avoir l'utilisation de Chontrol Paste, selon le profil d'emploi proposé, dans les emprises ainsi que pour gérer la végétation forestière.

7.5.1 Sommaire

Tableau 7.5.1.1 Sommaire des énoncés proposés pour l'étiquette et des recommandations à cet égard

Mode d'emploi	Énoncé proposé	Recommandation (fondée sur l'évaluation de la valeur du produit)	Commentaires
Moment de l'application	« Pour obtenir les meilleurs résultats possibles, appliquer Chontrol Paste sur les plaies de coupe fraîches à l'été ou à l'automne. »	Sans changement	Avec la clarification suivante : « Appliquer Chontrol Paste sur la souche des arbres fraîchement coupés pendant la saison de croissance, de l'été jusqu'au début de l'automne, et lorsque les conditions sont propices à la croissance et à l'infection fongiques. »
Nombre d'applications	Une par année	Sans changement	
Méthode d'application	« Appliquer Chontrol Paste sur toute la surface de la souche. »	Sans changement	Avec la clarification suivante : « Appliquer une mince couche de Chontrol Paste sur toute la surface de la souche dans les 30 minutes suivant la coupe. »
Cultures	Sans objet		
Espèces indésirables	Inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge, l'aulne de Sitka, l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble.	Oui	Le demandeur a présenté des données sur l'efficacité suffisantes pour accepter l'allégation selon laquelle le produit inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka.
		Non	Les données soumises sont insuffisantes pour justifier d'accepter les allégations concernant l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble.
Volume de pulvérisation	Sans objet		

7.5.1 Sommaire

Tableau 7.5.1.1 Sommaire des énoncés proposés pour l'étiquette et des recommandations à cet égard

Mode d'emploi	Énoncé proposé	Recommandation (fondée sur l'évaluation de la valeur du produit)	Commentaires
Moment de l'application	« Pour obtenir les meilleurs résultats possibles, appliquer Chontrol Paste sur les plaies de coupe fraîches à l'été ou à l'automne. »	Sans changement	Avec la clarification suivante : « Appliquer Chontrol Paste sur la souche des arbres fraîchement coupés pendant la saison de croissance, de l'été jusqu'au début de l'automne, et lorsque les conditions sont propices à la croissance et à l'infection fongiques. »
Nombre d'applications	Une par année	Sans changement	
Méthode d'application	« Appliquer Chontrol Paste sur toute la surface de la souche. »	Sans changement	Avec la clarification suivante : « Appliquer une mince couche de Chontrol Paste sur toute la surface de la souche dans les 30 minutes suivant la coupe. »
Cultures	Sans objet		
Espèces indésirables	Inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge, l'aulne de Sitka, l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble.	Oui	Le demandeur a présenté des données sur l'efficacité suffisantes pour accepter l'allégation selon laquelle le produit inhibe la formation de rejets de souche et le recrû chez l'aulne rouge et l'aulne de Sitka.
		Non	Les données soumises sont insuffisantes pour justifier d'accepter les allégations concernant l'aulne rugueux et le peuplier faux-tremble.
Volume de pulvérisation	Sans objet		

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

Dans le cadre de l'examen de la PC Chontrol Paste, l'ARLA a tenu compte de la PGST[1] fédérale et de la directive d'homologation DIR99-03[2]. Il a été établi que ce produit ne répond pas aux critères d'inclusion dans la voie 1 de la PGST parce que la m.a. est un organisme biologique et qu'il n'est donc pas visé par les critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxicologiques des produits chimiques de lutte antiparasitaire. En outre, l'AAM ne contient aucun sous-produit ou microcontaminant répondant aux critères d'inclusion dans la voie 1 de la PGST. On ne s'attend pas à ce que des impuretés d'importance toxicologique soient présentes dans les matières premières ou soient générées au cours du processus de fabrication en quantités suffisantes pour représenter un risque pour la santé et la sécurité humaines. Enfin, ni la souche PFC2139, ni Chontrol Paste ne contiennent de produits de formulation d'importance toxicologique.

9.0 Décision réglementaire

En vertu de l'article 17 du RPA, la MAQT, la souche PFC2139, et sa PC Chontrol Paste, qui contient la souche PFC2139 à des fins d'inhibition de la formation de rejets de souche, obtiennent une homologation temporaire, mais aux conditions suivantes :

- le fabricant doit garantir que le titre des produits mis en circulation sera toujours d'au moins 10^6 UFC/kg;
- le demandeur devra présenter une étude complémentaire sur la toxicité et la pathogénicité aiguë par voie pulmonaire ou une étude complémentaire sur l'infectiosité par injection intrapéritonéale.

---

1 Les intéressés peuvent consulter la Politique de gestion des substances toxiques affichée dans le site Web d'Environnement Canada, à l'adresse www.ec.gc.ca/toxics.

2 La directive d'homologation DIR99-03, intitulée *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en œuvre de la politique de gestion des substances toxiques*, peut être obtenue en s'adressant au Service de renseignements sur la lutte antiparasitaire, dont les coordonnées sont les suivantes : téléphone au Canada, 1 800 267-6315; téléphone à l'extérieur du Canada, 1(613) 736-3799 (il y aura des frais d'interurbain); télécopieur, 1 (613) 736-3798; courriel, pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca; site Web, www.pmra-arla.gc.ca.

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
AAM	agent antiparasitaire microbien
ADN	acide désoxyribonucléique
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
ATCC	American Type Culture Collection
cm	centimètre
CMM	cote maximale moyenne (à 24, 48 et 72 h)
DIR	directive d'homologation
DL_{50}	dose létale à 50 %
DMENO	dose minimale entraînant un effet nocif observé
DSENO	dose sans effet nocif observé
DSEO	dose sans effet observé
EPA	United States Environmental Protection Agency
EPI	équipement de protection individuelle
g	gramme
GCN	groupe de contrôle naïf
GT	groupe témoin
GTT-ALENA	Groupe de travail technique de l'Accord de libre-échange nord-américain
h	heure
ha	hectare
IMI	indice maximum d'irritation
j	jour
KF	Kenner Fecal
kg	kilogramme
LMR	limite maximale de résidus
m	mètre
m.a.	matière active
MAQT	matière active de qualité technique
mg	milligramme
mL	millilitre
mm	millimètre
MSHA	Mine Safety and Health Administration
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NZB	Néo-zélandais blanc (lapin)
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
p.c.	poids corporel
PC	préparation commerciale
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
RAPD	régions polymorphes amplifiées de l'ADN à l'aide de séquences aléatoires
REG	note réglementaire
RPA	*Règlement sur les produits antiparasitaires*
SCAR	régions amplifiées à séquence caractérisée
SE	substance à l'essai
SEM	substance à l'essai, morte

TCBS	thiosulfate, citrate, bile et saccharose
UFC	unité formant colonies

Annexe I Toxicologie

Tableau 1 Sommaire des études sur la toxicité et l'infectiosité de la souche PFC2139 et de Chontrol Paste

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité/pathogénicité par voie orale	Rat — CD® (SD) – 5/sexe traités avec l'AAM non dilué, dans de l'eau stérile, 5g/kg p.c. ou $1,2 \times 10^6$ UFC/kg p.c.	DL_{50} supérieure à 5 g/kg p.c. ou $1,2 \times 10^6$ UFC/kg p.c	Aucun signe clinique indiquant des effets toxiques; aucune mortalité; aucune anomalie constatée à l'autopsie FAIBLE TOXICITÉ

Annexe I Toxicologie

Tableau 1 Sommaire des études sur la toxicité et l'infectiosité de la souche PFC 2139 et de Chontrol Paste

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité/pathogénicité par voie orale	Rat — $CD^{\circledR}$ (SD) — 5/sexe traités avec l'AAM non dilué, dans de l'eau stérile, 5g/kg p.c. ou $1,2 \times 10^{9}$ UFC/kg p.c.	DL_{50} supérieure à 5 g/kg p.c. ou $1,2 \times 10^{9}$ UFC/kg p.c.	Aucun signe clinique indiquant des effets toxiques; aucune mortalité; aucune anomalie constatée à l'autopsie FAIBLE TOXICITÉ

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité/pathogénicité par voie pulmonaire	Rat – CD® (SD) – 20/sexe traités avec l'AAM vivant, dans de l'eau stérile (SE), 0,1 mL ou ~ $1,6 \times 10^4$ UFC/animal – 20/sexe traités avec l'AAM détruit par la chaleur (SEM), 0,1 mL – 20/sexe, groupe de contrôle naïf (GCN) – 5/sexe, groupe témoin (GT)	DL_{50} supérieure à $1,6 \times 10^4$ UFC/animal	– Un mâle traité avec la SE est mort au jour 2. – Signes cliniques de toxicité, notamment pelage rugueux (5/20 mâles traités avec la SE et 1/20 femelles traitées avec la SE) aux jours 2 à 4, respiration laborieuse (6/20 mâles traités avec la SE, 3/20 femelles traitées avec la SE et 2/20 femelles traitées avec la SEM) aux jours 0 à 2, écoulement nasal (1/20 mâles traités avec la SE) au jour 0, dos voûté (1/20 femelles traitées avec la SE) au jour 0. – Du jour 0 au jour 7, perte de p.c. chez 8/15 mâles traités avec la SE, 1/15 mâles traités avec la SEM, 1/15 mâles du GT, 3/15 femelles traitées avec la SE, 4/15 femelles traitées avec la SEM 2/5 femelles du GT. Perte de p.c. également chez 1/10 femelles traitées avec la SE et 3/10 femelles traitées avec la SEM du jour 7 au jour 14. – À l'autopsie, parenchyme pulmonaire pâle/tacheté, lobe intermédiaire du poumon tacheté et/ou poumon gauche tacheté observés chez la plupart des rats traités avec la SE ou la SEM, y compris chez le mâle traité avec la SE et mort au jour 2. Aucune lésion macroscopique constatée chez les animaux du GCN ou du GT. Augmentation significative du poids des poumons et des ganglions lymphatiques connexes, et diminution significative du poids des reins chez les sujets traités avec la SE ou avec la SEM jusqu'au jour 14. Au jour 14, augmentation du poids des poumons et des ganglions lymphatiques connexes, et diminution du poids du foie observées chez les mâles du GT.

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
			– Après administration de la dose, *C. purpureum* détecté dans les poumons et les ganglions lymphatiques connexes chez les rats traités avec la SE. On n'a décelé aucune trace de *C. purpureum* dans les tissus prélevés sur le mâle traité avec la SE et mort au jour 2, ou dans les tissus prélevés aux jours 7 et 14. – Chez les femelles du GCN, 1/20 femelles a montré des signes de léthargie et semblait amaigrie à partir du jour 7; au jour 9, sa posture est devenue voûtée et, au jour 13, son pelage est devenu rugueux. On a observé une perte de p.c. chez : 5/15 femelles du jour 0 au jour 7; 4/10 femelles du jour 7 aux jours 14 à 16. Une femelle du GCN a perdu du poids de façon constante et on a enregistré une perte de p.c. globale chez 4/10 femelles. LÉGÈREMENT TOXIQUE, NON PATHOGÈNE ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE
Toxicité par voie cutanée	Lapin — NZB – 5/sexe traités avec 2 000 mg/kg p.c. de Chontrol Paste ($3,4 \times 10^4$ UFC/kg p.c.) appliqués dans le dos sur une surface de ~150 cm^2, recouverte ensuite pendant 24 h, puis rincée.	DL_{50} supérieure à $3,4 \times 10^4$ UFC/kg p.c.	Aucune mortalité ni anomalie à l'autopsie. Léger érythème observé chez 3/5 mâles et 3/5 femelles sur la surface traitée au moment où celle-ci a été découverte, et érythème bien défini constaté chez 1/5 mâles et chez 2/5 femelles. Disparition de l'irritation en 72 h FAIBLE TOXICITÉ
Irritation cutanée	Lapin — NZB – Voir l'étude sur la toxicité par voie cutanée ci-dessus.	Indice maximum d'irritation (IMI) 1,2/8 (1 h) Cote maximale moyenne (CMM) 0,6/8 (24, 48, 72 h)	Voir les commentaires ci-dessus. LÉGÈREMENT IRRITANT
Irritation oculaire	Lapin — NZB – 3 femelles traitées avec Chontrol Paste, non diluée, application de 0,1 mL dans l'oeil droit	IMI 1,3/110 (1 h) CMM 0,7/110 (24, 48, 72 h)	Légère rougeur conjonctivale constatée chez un animal à 24 et 48 h, et chez un deuxième animal à 24 h. PROVOQUE UNE IRRITATION MINIME

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité pathogénicité par voie pulmonaire	Rat : CD® (SD) - 20 sexe traités avec CAAM vivant, dans de l'eau stérile (SE) 0,1 mL ou $1,6 \times 10^8$ UFC/animal - 20 sexe traités avec CAAM détruit par la chaleur (SEM) 0,1 mL - 20 sexe, groupe de contrôle naïf (GCN) - 5 sexe, groupe témoin (GT)	DL$_{50}$ supérieure à $1,6 \times 10^8$ UFC/animal	- Un mâle traité avec la SE est mort au jour 2. - Signes cliniques de toxicité, notamment pelage rugueux (5/20 mâles traités avec la SE et 1/20 femelles traitées avec la SE) aux jours 2 à 4, respiration laborieuse (6/20 mâles traités avec la SE, 3/20 femelles traitées avec la SE et 2/20 femelles traitées avec la SEM) aux jours 0 à 2, écoulement nasal (1/20 mâles traités avec la SE) au jour 0, dos voûté (1/20 femelles traitées avec la SE) au jour 0. - Du jour 0 au jour 7, perte de p.c. chez 8/15 mâles traités avec la SE, 1/15 mâles traités avec la SEM, 1/5 mâles du GT, 3/15 femelles traitées avec la SE, 4/15 femelles traitées avec la SEM, 2/5 femelles du GT. Perte de p.c. également chez 1/10 femelles traitées avec la SE et 3/10 femelles traitées avec la SEM du jour 7 au jour 14. - À l'autopsie, parenchyme pulmonaire pâle tacheté, lobe intermédiaire du poumon tacheté et/ou poumon gauche tacheté observés chez la plupart des rats traités avec la SE ou la SEM, y compris chez le mâle traité avec la SE et mort au jour 2. Aucune lésion macroscopique constatée chez les animaux du GCN ou du GT. Augmentation significative du poids des poumons et des ganglions lymphatiques connexes, et diminution significative du poids des reins chez les sujets traités avec la SE ou avec la SEM jusqu'au jour 14. Au jour 14, augmentation du poids des poumons et des ganglions lymphatiques connexes, et diminution du poids du foie observées chez les mâles du GT.

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHES ET DOSES	DL_{50}, DSEO, DSENO ET DMENO	ORGANES CIBLES/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES SUR LA TOXICITÉ AIGUË			
			– Après administration de la dose, *C. psittaci* non détecté dans les poumons et les ganglions lymphatiques connexes chez les rats traités avec la SE. On n'a décelé aucune trace de *C. psittaci* dans les tissus prélevés sur le mâle traité avec la SE et mort au jour 2, ou dans les tissus prélevés aux jours 7 et 14. – Chez les femelles du GCN, 1/20 femelles a montré des signes de léthargie et semblait amaigrie à partir du jour 7; au jour 9, sa posture est devenue voûtée et, au jour 13, son pelage est devenu rugueux. On a observé une perte de p.c. chez : 5/15 femelles du jour 0 au jour 7; 4/10 femelles du jour 7 aux jours 14 à 16. Une femelle du GCN a perdu du poids de façon constante et on a enregistré une perte de p.c. globale chez 4/10 femelles. LÉGÈREMENT TOXIQUE, NON PATHOGÈNE ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE
Toxicité par voie cutanée	Lapin — NZB – 5/sexe traités avec 2 000 mg/kg p.c. de Chontrol Paste ($3,4 \times 10^9$ UFC/kg p.c.) appliqués dans le dos sur une surface de ~150 cm^2, recouverte ensuite pendant 24 h, puis rincée.	DL_{50} supérieure à $3,4 \times 10^9$ UFC/kg p.c.	Aucune mortalité ni anomalie à l'autopsie. Léger érythème observé chez 3/5 mâles et 3/5 femelles sur la surface traitée au moment où celle-ci a été découverte, et érythème bien défini constaté chez 1/5 mâles et chez 2/5 femelles. Disparition de l'irritation en 72 h. FAIBLE TOXICITÉ
Irritation cutanée	Lapin — NZB – Voir l'étude sur la toxicité par voie cutanée ci-dessus.	Indice maximum d'irritation (IMI) 1,2/8 (1 h) Cote maximale moyenne (CMM) 0,6/8 (24, 48, 72 h)	Voir les commentaires ci-dessus. LÉGÈREMENT IRRITANT
Irritation oculaire	Lapin — NZB – 3 femelles traitées avec Chontrol Paste, non diluée, application de 0,1 ml dans l'œil droit.	IMI 1,3/110 (1 h) CMM 0,7/110 (24, 48, 72 h)	Légère rougeur conjonctivale constatée chez un animal à 24 et 48 h, et chez un deuxième animal à 24 h. PROVOQUE UNE IRRITATION MINIME

Annexe II Évaluation environnementale

Tableau 1 Risques posés par la souche PFC2139 pour les organismes terrestres non ciblés

Organismes	Exposition	Substance à l'essai	Conclusion
Arthropodes	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Oiseaux	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Mammifères sauvages	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Végétaux	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu des renseignements et des données montrant que les risques ne devraient pas être supérieurs aux risques associés aux populations naturelles de *C. purpureum*.
Microorganismes du sol	Aiguë	Non requis	Ces données n'étaient pas exigées.
Invertébrés autres que les arthropodes	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.

Annexe II Évaluation environnementale

Tableau 1 Risques posés par la souche PFC 2139 pour les organismes terrestres non ciblés

Organismes	Exposition	Substance à l'essai	Conclusion
Arthropodes	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Oiseaux	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Mammifères sauvages	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Végétaux	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu des renseignements et des données montrant que les risques ne devraient pas être supérieurs aux risques associés aux populations naturelles de *C. purpureum*.
Microorganismes du sol	Aiguë	Non requis	Ces données n'étaient pas exigées.
Invertébrés autres que les arthropodes	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.

Tableau 2 Risques posés par la souche PFC 2139 pour les organismes aquatiques non ciblés

Organismes	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Arthropodes d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité
Poissons d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité
Plantes d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité
Arthropodes marins et estuariens	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité
Poissons marins et estuariens	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité

Tableau 2 Risques posés par la souche PFC2139 pour les organismes aquatiques non ciblés

Organismes	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Arthropodes d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Poissons d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Plantes d'eau douce	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Arthropodes marins et estuariens	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.
Poissons marins et estuariens	Aiguë	Justification présentée à l'appui d'une demande d'exemption, au lieu de données	La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** compte tenu du potentiel de risque limité.

Références

Becker, E.M., A. Ball et W.E. Hintz. 1999. PCR-based genetic markers for detection and infection frequency analysis of the biocontrol fungus *Chondrostereum purpureum* on sitka alder and trembling aspen. *Biological Control*. 15: 71-80.

Bishop, G.C. 1978. *Studies on silver leaf disease of stone and pome fruit trees*. Thèse de doctorat, Université d'Adelaide. 128 p.

La biodiversité du Canada. 2003. Le site Web de la biodiversité canadienne. Adresse : www.canadianbiodiversity.mcgill.ca. Consulté le 5 août 2003.

Conseil canadien des ministres des forêts. 1993. Abrégé de statistiques forestières canadiennes. Ottawa, Ontario. Conseil canadien des ministres des forêts. Version anglaise : 122 p.

Haeuschler, S. et D. Coates. 1986. *Autecological Characteristics of Selected Species that Compete with Conifers in British Columbia: a Literature Review*. Rapport 001 de l'Entente Canada—Colombie-Britannique sur la mise en valeur des ressources forestières. 180 p.

Hosie, R.C. 1980. *Arbres indigènes du Canada*. 8e édition. Montréal, Éditions Fides. 389 p.

Little, E.L., Jr. 1971. *Atlas of United States Trees, Volume 1, Conifers and Important Hardwoods*. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication. 1146, 9 p.

Little, E.L., Jr. 1976, *Atlas of United States Trees, Volume 3, Minor Western Hardwoods*. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication. 1314, 13 p.

MacLean, D.A. et M.G. Morgan. 1982. Long term growth and yield response of young fir to manual and chemical release from shrub competition. *For. Chron.* 59: 177–183.

Smith, S.M. 1988. *Regeneration Delays and Natural Yields on Untreated Backlog Forest Land in British Columbia*. Rapport 043 de l'Entente Canada—Colombie-Britannique sur la mise en valeur des ressources forestières. 130 p.

Wall, R.E. 1996. *Pathogenicity of the Bioherbicide Fungus* Chondrostereum purpureum *to Some Trees and Shrubs of Southern Vancouver Island*. Rapport 246 de l'Entente Canada—Colombie-Britannique sur la mise en valeur des ressources forestières. 18 p.